



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**Parámetros fermentativos *in vitro* y calidad de la dieta
de alpacas en pastoreo durante la época de lluvia**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria

AUTOR

Dánika Rossellí ROBLES FAJARDO

ASESOR

Mg. Juan Pavel OLAZÁBAL LOAIZA

Lima, Perú

2022



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Robles D. Parámetros fermentativos in vitro y calidad de la dieta de alpacas en pastoreo durante la época de lluvia [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2022.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Dánika Rossellí Robles Fajardo
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	47385862
URL de ORCID	-
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Juan Pavel Olazábal Loayza
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	20050845
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-2389-3967
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Felipe Antonio San Martín Howard
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09300356
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Francisco Enrique Franco Febres
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	23864422
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Arturo Lorenzo Rosales Fernández
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07678743
Datos de investigación	

Línea de investigación	A1. Producción y sanidad de camélidos sudamericanos
Grupo de investigación	Grupo de investigación en ganadería altoandina sustentable
Agencia de financiamiento	“Este trabajo fue financiado por el CONCYTEC-PROCIENCIA en el marco de la convocatoria Proyecto Investigación Básica 2019-01 [número de contrato 391-2019-FONDECYT.]”
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de medicina veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Latitud: -12.0964515 Longitud: -76.995689
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2021 - 2022
URL de disciplinas OCDE	Ciencia Veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **lunes 12 de diciembre de 2022**, a las **10:00 am**, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° **0144-EPMV/FMV-2022**, integrado por los siguientes profesores:

MV. PhD.	San Martín Howard, Felipe Antonio	Presidente del Jurado
Ing. Mg.	Olazábal Loaiza, Juan Pavel	Asesor de la Tesis
Ing. Zoot. Mg.	Franco Febres, Francisco Enrique	Miembro del Jurado
MV. Mg.	Rosales Fernández, Arturo Lorenzo	Miembro del Jurado

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, la Bachiller Doña: **ROBLES FAJARDO, DÁNKA ROSSELLÍ** para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

“PARÁMETROS FERMENTATIVOS *in vitro* Y CALIDAD DE LA DIETA DE ALPACAS EN PASTOREO DURANTE LA ÉPOCA DE LLUVIA”,

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria del Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECISIETE (17)**.

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **11:15 a.m.**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:

San Martín Howard, Felipe Antonio: Prof. MV. PhD. Principal DE.



Firmado digitalmente por OLAZABAL
LOAIZA Juan Pavel FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 04.07.2023 15:01:49 -05:00

Olazábal Loaiza, Juan Pavel: Ing. Mg. Prof. Asociado TC.

Franco Febres, Francisco Enrique: Ing. Zoot. Mg. Prof. Asociado TC.

Rosales Fernández, Arturo Lorenzo: MV. Mg. Prof. Asociado TP.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria
ep.veterinaria@unmsm.edu.pe
“AÑO DE LA UNIVERSALIZACIÓN DE LA SALUD”

INFORME DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario

1. Facultad: Medicina Veterinaria
2. Escuela: Medicina Veterinaria
3. Autoridad académica que emite el informe de originalidad: Escuela Profesional de Medicina Veterinaria.
4. Apellidos y Nombres de la Autoridad Académica: Santiani Acosta, Alexei Vicent
5. Operador del Programa Informático de similitudes: Sandoval Monzón Rocío Silvia.
6. Documento evaluado: “Estimación de los parámetros fermentativos *in vitro* de la dieta de la alpaca en pastoreo durante la época de lluvia”
7. Autor del documento: Danika rosselli robles fajardo
8. Fecha de recepción del documento: 07 de junio del 2022
9. Fecha de aplicación del programa informático: 09 de junio del 2022
10. Software utilizado
 - Turnitin
11. Configuración del programa detector de similitudes:
 - Excluye textos entrecomillados
 - Excluye bibliografía
 - Excluye cadenas menores de 40 palabras
 - Exclusión de fuentes para buscar similitud
12. Porcentaje de similitudes según programa detector de similitudes: 8%
13. Fuentes originales de similitudes encontradas:
 - Hdl.handle.net 3%
 - Doczz.net 2%
 - Con.www.gob.pe 1%
 - Bulería.unileon.es 1%
 - Esprints.uanl.mx 1%
 - Zaguán.unípara.es 1%
 - Dina.concytec.gob.pe 1%
14. Observaciones: el mayor porcentaje de las similitudes halladas en la tesis evaluada se encuentra en la sección revisión bibliográfica.
15. Calificación de originalidad:
DOCUMENTO CUMPLE CRITERIOS DE ORIGINALIDAD, SIN O
del informe: 09 de junio del 202



UNMSM

UNMSM
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria
SANTIANI
Alexei Vicent
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 10.06.2022 17:09:28 -05:00

Dr. Alexei Vicent Santiani Acosta
Director EPMV

Dedicatoria

Le dedico esta tesis a mi madre por todo el apoyo incondicional dado, el esfuerzo y la comprensión, lo logramos mamita.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi madre y hermanas por ayudarme en cada paso.

Agradezco a mi asesor de tesis el Ing. Olazabal por la paciencia brindada.

Agradezco al Doctor Víctor Carreño por ayudarme en todos estos años incondicionalmente siempre
velando por mi bienestar.

ÍNDICE

	Pág.
LISTA DE CUADROS	6
LISTA DE FIGURAS	7
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
I. INTRODUCCIÓN	10
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 Camélidos sudamericanos	11
2.2 Anatomía y fisiología digestiva de las alpacas	11
2.2.1 Anatomía digestiva de la alpaca	12
2.2.2 Fisiología digestiva de la alpaca	12
2.3 Selectividad de alimento en alpacas	13
2.4 Zonas andinas	14
2.5 Épocas del año	15
2.6 Cambio climático	17
2.7 Gases de efecto invernadero	18
2.8 Producción de metano por la ganadería	20
2.9 Técnicas para medir el valor nutritivo de los forrajes en rumiantes	21
2.9.1 Digestibilidad <i>in vitro</i>	22
2.9.2 Técnicas de producción de gas <i>in vitro</i>	23
III. MATERIALES Y MÉTODOS	26
3.1 Lugar de ejecución	26

3.2 Descripción del material experimental	26
3.3 Diseño experimental u observacional	26
3.3.1 Simulación manual de la dieta	26
3.3.2 Fermentación in vitro	27
3.3.3 Toma de muestras	27
3.4 Procedimientos analíticos	27
3.4.1 Determinación de proteína	27
3.4.2 Determinación de fibra detergente cruda	29
3.4.3 Determinación de metano	29
3.4.4 Determinación de amoniaco	30
3.4.5 Determinación de ácidos grasos volátiles	32
3.5 Análisis estadístico	32
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
4.1 Composición nutricional de la dieta de alpacas	33
4.2 Parámetros digestivos de la dieta de alpacas	35
V. CONCLUSIONES	38
VI. BIBLIOGRAFÍA	39

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Índices de similaridad (%) entre las dietas de alpacas, llamas y ovinos en pasturas naturales en diferentes periodos de tiempo.	14
Cuadro 2. Relación entre los cambios estacionales, precipitaciones y características forrajeras	16
Cuadro 3. Correlación de la cantidad de metano y el área obtenida por el cromatógrafo de una muestra estándar	30
Cuadro 4. Concentraciones de solución estándar para determinar amoniaco	31
Cuadro 5. Composición nutricional de la dieta de alpacas mantenidas en pasturas naturales durante la época de lluvia	33
Cuadro 6. Parámetros fermentativos <i>in vitro</i> de la dieta de alpacas en pastoreo durante la época de lluvias	35

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura. 1. Emisiones de gases efecto invernadero de la categoría agricultura	19

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo estimar los parámetros fermentativos *in vitro* y la composición nutricional de la dieta de alpacas durante la época de lluvias (noviembre-marzo). El trabajo se desarrolló en la Estación Experimental IVITA Maranganí, el Laboratorio de Zootecnia y Producción Agropecuaria de la Facultad Medicina Veterinaria y el Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú. Se utilizaron doce alpacas, machos, adultos (3-5 años), con un peso promedio de 60 kg, mantenidos a 4200 m.s.n.m. Las muestras se obtuvieron por selección manual y fueron incubados con fluido ruminal bajo condiciones de anaerobiosis a 39°C durante 24 horas. La composición nutricional (media \pm desviación estándar) de las muestras fueron: Proteína 9.38 \pm 3.53%, Ceniza 9.10 \pm 1.44%, Fibra detergente neutro 76.00 \pm 3.66%, Fibra detergente ácido 37.85 \pm 1.89%, Lignina 4.008 \pm 0.80. Los parámetros fermentativos *in vitro* obtenidos fueron: digestibilidad 53.83 \pm 6.22%, producción de gases 73.75 \pm 9.71 ml/g MS, metano 2.85 \pm 1.02 ml/g MS, acético 1306.68 \pm 265.4 μ mol, propiónico 348.16 \pm 81.20 μ mol, relación acética/propiónico 2.07 \pm 1.73, NH₃-N 143.01 \pm 30.91 mg/L. La energía metabolizable de la dieta consumida obtenida a partir de la producción de gases fue de 3.49 \pm 0.31 MJ/kg MS. Se concluye que la dieta consumida en la época de lluvia tuvo valores nutricionales intermedios, una baja producción de gases y la prevalencia del ácido acético entre AG.

Palabras clave: alpacas, metano, cambio climático, digestibilidad.

ABSTRACT

This study aimed to estimate *in vitro* fermentative parameters and nutritional composition of alpacas' diet during rainy season (November-March). Research was performed at IVITA's Marangani Experimental Station, Laboratory of Animal Science and Production - the School of Veterinary Medicine, and Laboratory of Organic Chemistry - School of Pharmacy and Biochemistry, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú. Twelve adult (3-5 years-old) male alpacas weighting 60kg in average and kept at 4200 m.a.s.l. Manually collected food was incubated with ruminal fluid under anaerobiosis at 39°C during 24 hours. Nutritional composition (mean ± standard deviation) was: Protein 9.38±3.53%, Ash 9.10±1.44%, neutral detergent fiber 76.00±3.66%, acid detergent fiber 37.85±1.89%, lignin 4.008±0.80. Obtained *in vitro* nutritional parameters were: digestibility 53.83±6.22%, gas production 73.75±9.71 ml/g DM, methane 2.85±1.02 ml/g DM, acetic acid 1306.68±265.4 µmol, propionic acid 348.16±81.20 µmol, acetic/propionic ratio 2.07±1.73, NH₃-N 143.01±30.91 mg/L. Metabolizable energy was estimated based on gas production, obtaining 3.49±0.31 MJ/kgDM. In conclusion, diet consumed during rainy season had intermediate nutritional values, a low gas production, and prevalence of acetic acid among VFA.

Keywords: alpacas, methane, climate change, digestibility.

I. INTRODUCCIÓN

La zona andina se caracteriza por la marcada estacionalidad de lluvias, alta radiación ultravioleta, baja presión atmosférica, baja concentración de oxígeno y la gran altitud, prevaleciendo el ecosistema de pastizales en esta zona (San Martín y Bryant, 1989). Las alpacas (*Vicugna pacos*) habitan esta zona siendo la principal fuente de proteína dietaria y de recursos económicos para la población local.

Las alpacas, presentan características anatómicas y fisiológicas digestivas particulares, que les ha permitido adaptarse al medio ambiente andino, usando de forma eficiente los recursos forrajeros de baja calidad y con limitada disponibilidad durante la época seca.

La información sobre la dieta que consumen las alpacas es de vital importancia ya que a partir de este conocimiento se puede tomar decisiones para optimizar el sistema productivo tanto a nivel de las alpacas como de los pastizales. Los estudios sobre la composición de la dieta en alpacas fueron realizados usando fistulas esofágicas, estudios de tejido vegetal en las heces y otros; sin embargo, la simulación manual puede presentarse como una oportunidad para realizar estudios de la composición de la dieta en alpacas.

Por estas consideraciones, se plantea el presente estudio con el objetivo de estimar los parámetros fermentativos *in vitro* de la dieta de alpacas al pastoreo durante la época de lluvias, con la finalidad de poder aportar información de la calidad de la dieta consumida por las alpacas tratando de hacer una aproximación a la dieta que consumen a través de la simulación manual.

II.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Camélidos sudamericanos

Los camélidos sudamericanos (CSA) juegan un papel importante en la economía de las zonas alto andinas, ya que la mayoría de especies destinadas a la ganadería no suelen estar adaptadas a altitudes mayores a 4000 msnm y a las condiciones ambientales extremas que presentan como la variación de temperatura y la calidad de pastizales (Quispe, 2017).

Los CSA, está compuesto por dos especies silvestres y dos domesticas (llama y alpaca). La alpaca, es el CSA domestico de gran importancia económica para el poblador de la zona andina. La población de alpacas, es de 3,7 millones, aproximadamente, habiéndose incrementado en los últimos años. La región de Puno tiene la mayor población de alpacas, con 1 millón 460 mil, seguida de Cuzco y Arequipa (MINAGRI 2018).

2.2 Anatomía y fisiología digestiva de las alpacas

Para vivir en las condiciones ambientales en las que se desarrollan las alpacas han desarrollado aspectos anatómicos y fisiológicos digestivos particulares, estas adaptaciones les permite utilizar alimentos de baja calidad, altos en fibra y de bajo contenido proteico (Jaurena *et al.*, 2019).

2.2.1 Anatomía digestiva de la alpaca

La alpaca es un poli cavitario, que posee tres compartimentos, los cuales comprenden el 83, 6 y 11% de su volumen, respectivamente. El primer compartimento es comparado con el rumen, ya que es el más voluminoso, ventralmente posee un surco el cual lo divide en un saco craneal y otro caudal. Este compartimento tiene un epitelio glandular, permitiendo la secreción de sustancia tamponada que contribuye con la saliva y el mantenimiento del pH, la cual favorece al desarrollo y mantenimiento de la microbiota (San Martín y Bryant, 1989). Asimismo, este compartimento presenta las glándulas acuíferas, las cuales mantienen la humedad de los alimentos, además esto explicaría por qué las alpacas soportan periodos largos sin beber agua (Sato, 2017).

El compartimento dos también tiene ambos tipos de epitelio, las paredes de la curvatura mayor en forma reticular, similar al de los rumiantes. Finalmente, el compartimento tres está cubierto por una mucosa glandular y tiene forma tubular, contiene pliegues longitudinales (San Martín y Bryant, 1989).

2.2.2. Fisiología digestiva de la alpaca

El proceso digestivo de la alpaca, es similar a los rumiantes. A diferencia de los rumiantes, las alpacas presentan una mayor capacidad para digerir alimentos de baja calidad (San Martín, 1991); sin embargo, esta característica se pierde cuando consume alimentos de alta calidad (San Martín y Bryant, 1989).

La mayor eficiencia de las alpacas para digerir pastos de baja calidad se debe a sus características fisiológicas, tales como el mayor tiempo de retención del alimento, la mayor capacidad de reciclaje de nitrógeno, la mayor velocidad de la fase líquida, la menor velocidad de la fase sólida y el menor consumo voluntario (San Martín y Bryant, 1989). Así, al consumir una dieta con mayor concentración de fibra, disminuye las tasas de paso, el consumo de la materia seca y estas características podrían hacer especular que aumentaría la producción de CH₄ por unidad de

materia seca (Vargas y Cárdenas, 2012).

Las alpacas, en comparación con los rumiantes, tienen características fisiológicas digestivas nutricionales peculiares; así se puede distinguir que poseen: una mayor capacidad de digerir forraje baja calidad, un mayor tiempo de retención del alimento, una mayor tasa de dilución y menor consumo de materia seca y agua.

Además, son particularmente diferentes a los rumiantes en cuanto a su metabolismo de urea y glucosa (San Martín, 1991). Estas diferencias fisiológicas, digestivas y nutricionales, dificultan la extrapolación y aplicación directa en alpacas de lo que se conoce y obtiene en los estudios en rumiantes (San Martín y Bryant, 1989).

2.3 Selectividad de alimento en alpacas

En el medio en el que se desarrollan las alpacas disponen de una gran variedad de especies vegetales y para cubrir sus requerimientos los animales eligen diferentes plantas y diferentes partes de ellas. En tal sentido, las alpacas son altamente adaptables, ya que su selectividad de alimento varía dependiendo de la disponibilidad del forraje, y son muchos los factores que la afectan; por ejemplo, las estaciones, si son animales estabulados o que se alimentan al pastoreo. Cabe señalar que los animales al pastoreo no ingieren todas las pasturas que se encuentran en la pradera, sino van seleccionando sitios forrajeros (San Martín 1987).

En el cuadro 1, se presenta la similaridad entre alpacas, llamas y ovejas Durante la temporada seca se observa que las alpacas y llamas tienen alta similaridad en la pradera dominada por *Festuca rigida*, mientras que se observó un patrón similar entre alpacas y ovinos en praderas dominadas por *Festuca dolichophylla*.

Cuadro 1. Índices de similaridad (%) entre las dietas de alpacas, llamas y ovinos en pasturas naturales en diferentes periodos de tiempo.

Tipos de pasturas	Cultivadas		Pastizal <i>Festuca dolichophylla</i>		Pastizal <i>Festuca rigida</i>	
	Seco	lluvia	Seco	Lluvia	Seco	Lluvia
Llamas vs Alpacas	99	94	67	59	84	51
Llamas vs Ovinos	75	73	60	55	61	60
Alpacas vs Ovinos	76	74	83	61	70	59

Fuente San Martín (1987)

Las alpacas presentaron cambios considerables en su selectividad de forraje, la cual depende de la disponibilidad de diferentes especies de pasturas en cada estación del año (Quispe, 2016). Así, se concluye que debido a que las alpacas tienen un gran poder de adaptación y pueden variar sus preferencias, se pueden emplear en pastoreo con una sola especie animal (Quispe, 2016).

2.4 Zona andina

El ecosistema altoandino está generalmente ubicado encima de 4 500 m.s.n.m., con suelos crioturbados y descubiertos con abundantes quebradillas (producto de deshielo), con presencia en determinadas áreas de vegetación crioturbada y dinámica (frecuentemente sucesional). La vegetación es baja y dispersa (generalmente no supera los 30 o 40 cm), constituida principalmente por céspedes dominados por gramínea de tallo y hojas duras, con presencia variable de arbustos resinosos, intercalando vegetación saxícola en los afloramientos rocosos (está típicamente asociado a los arbustos) y canllares (formaciones de *Margyricarpus sp.*). Una comunidad notable está conformada por los rodales de Puya Raimondi (*Puya titanca*), El clima es marcadamente estacional, con una época seca muy intensa, que se acentúa notablemente hacia el sur y el oeste

(MINAGRI, 2019).

La agricultura alto andina es el ejemplo de adaptabilidad al ambiente hostil y semiárido de Los Andes, ya que el calentamiento en dicha región está ocurriendo al doble de velocidad que se esperaba. Esto va a repercutir negativamente, ya que no solo se verán afectados los cambios de temperatura sino también, los climas extremos serán más fuertes y severos, generando un escenario adverso en temas económicos y de sostenibilidad. Los cambios climáticos generarán un efecto en cadena sobre sostenibilidad de las especies vegetales, animales y seres humanos en esta región (Quispe, 2017).

Debido a su ubicación y latitud en relación al Ecuador, en Los Andes la radiación ultravioleta es extremadamente alta. Un efecto relacionado con la producción de metano (CH_4) es la reducción de la capa de ozono, la cual nos protege de los rayos ultravioleta (UV). El nitrógeno es otro gas del efecto invernadero que se encuentra principalmente en la orina de los CSA. En la actualidad hay métodos sencillos implementados para la disminución de éste en la producción de CSA debido a éstos usan las letrinas, en comparación con los rumiantes que depositan la orina en diferentes lugares. Asimismo, se están tomando diferentes métodos para disminuir la producción de CH_4 como ejemplo la selección genética de baja emisión, selección de microorganismos de modulación y manipulación de la dieta nutricional (Quispe, 2017).

2.5 Épocas del año

La alimentación de alpacas en el Perú está basada en pasturas naturales, las cuales están influenciadas básicamente por la disponibilidad de lluvias. En el Cuadro 2, se presenta la relación entre los cambios estacionales, precipitaciones y características forrajeras de la pradera alto andina. Se observan cuatro períodos definidos en el ambiente que van a influir en la pastura (San Martín y Bryant, 1989).

Cuadro 2. Relación entre los cambios estacionales, precipitaciones y características forrajeras de la pradera alto andina.

Período	Estado fenológico	Meses	Precipitación	Características del forraje
I	Inicio del crecimiento	Noviembre a Diciembre	Inicio de lluvias	Verde, alta calidad, cantidad limitada
II	Crecimiento, floración	Enero a Abril	Lluvias	Verde, alta calidad, cantidad no limitada
III	Maduración	Mayo a Julio	Inicio de temporada seca	Seco, baja calidad, cantidad no limitada
IV	Dormancia	Agosto a Octubre	Temporada seca	Seco, baja calidad, cantidad limitada.

Fuente: San Martín y Bryant, 1989.

Las características ambientales, disponibilidad de lluvias, variación de temperatura, radiación solar y la altitud afectan las características nutricionales de las pasturas, no solo en la cantidad disponible sino también en la composición química de éstas, influyendo en las características

nutricionales como la digestibilidad y la cantidad de proteína. La información disponible muestra que durante la época de lluvia se elevan los niveles de proteína y la digestibilidad a comparación de la época seca (San Martín y Bryant, 1989).

Los periodos identificados en la pastura natural muestran su asociación con las características del forraje. Así tenemos que en los meses de noviembre a diciembre es el inicio de la época de lluvias en las zonas andinas y por lo tanto los pastos inician su crecimiento, presentando alta calidad, pero de cantidad limitada. En los meses de enero a abril, meses de lluvias, existe un crecimiento sostenido de los pastos y se produce la floración encontrándose una mayor disponibilidad de forrajes de alta calidad nutritiva. Durante los meses de mayo a junio la pastura se seca e inicia la fase de maduración, habiendo disponibilidad de forrajes, pero de baja calidad. Durante agosto a diciembre es la época seca propiamente dicha, donde disminuye la cantidad y la calidad del forraje (San Martín y Bryant, 1989).

Los cambios estacionales generan variaciones muy marcadas en la cantidad y calidad de los forrajes, la cual es la base de los animales de pastoreo. Esta característica hace que en algunos momentos del año no se cubran los requerimientos nutricionales de las alpacas (Flores *et al.*, 1992), lo cual conlleva a que las alpacas en ciertas épocas del año sean más selectivas buscando cubrir tales requerimientos.

2.6 Cambio climático

El cambio climático (CC) es una de las principales amenazas a nivel mundial. Se están realizando estudios científicos sobre el CC para ver el grado de alteraciones que se están generando en el planeta por las variaciones de temperatura. Los científicos han proyectado cambios en el clima para los siguientes años, es probable que las alteraciones de la temperatura por el CC tengan un efecto sobre los suministros de agua y el incremento de la temperatura inducirá a una nueva distribución de las áreas de desiertos y la humedad en el mundo, alterando de esta manera los

ecosistemas y perjudicando la salud de los seres vivos (FAO, 2019).

El CC es originado por el efecto invernadero, que es un fenómeno natural en el cual se queda una parte de la radiación, equilibrando la temperatura del planeta. En las últimas décadas se ha incrementado la cantidad de gases de efecto invernadero en la atmósfera, generando que una mayor cantidad de radiación se quede en la atmósfera y ocasione un incremento de la temperatura en el planeta generando el calentamiento global (Dongo, 2018).

2.7 Gases de efecto invernadero

Los principales gases que integran la categoría de gas con efecto invernadero son el dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄), óxido nitroso (N₂O) y los llamados clorofluorocarbonos. La emisión de Gases de efecto invernadero (GEI) se da por diversos sectores, correspondiendo un 32% al sector industrial, mientras que la agricultura representa el 25% y el transporte el 10.5%, entre otros (Almaraz *et al.*, 2018). Dentro de la agricultura, una de las principales fuentes de CH₄ proviene de la fermentación entérica, con un 41,2% equivalente de 10735 Gg CO₂eq (MINAGRI, 2019).

Como parte de los acuerdos políticos internacionales, los países deben de informar sobre sus emisiones de GEI de todos los sectores, para esto se realizan inventarios nacionales de GEI (INGEI). Estos inventarios se realizan de acuerdo a la guía elaborada por el Panel Intergubernamental de Cambio Climático (IPCC). Las guías del IPCC tienen metodologías para la elaboración de los inventarios nacionales (Vázquez y Ku-Vera, 2020).

Para realizar el inventario de GEI por la ganadería existen tres niveles, el primer nivel se basa en estadísticas internacionales y estudios anteriores (Ocas, 2019) multiplicando el factor de emisión de gas por el número de cabezas de ganado de un país y llevarlo a CO₂-eq (FAO, 2015). El nivel dos requiere una serie de datos más exactos; por ejemplo, consumo de energía neta, lactancia, crecimiento y otros, tomando un rendimiento del CH₄ según el sistema productivo. En el nivel

tres, se tiene que realizar cálculos directos con sistemas de medición adaptados a las circunstancias nacionales, y con intervalos de repeticiones, lo que permite tener datos de mayor certeza a diferencia de los otros niveles (Villar, 2019).

En Perú se han realizado muy pocos estudios para estimar la emisión de GEI por la ganadería, la primera estimación realizada fue a nivel uno y a partir de ello se pretende generar información que pueda servir para realizar estimaciones de forma más precisa (Moscoso, 2017); sin embargo, para realizar estimaciones más precisas se requiere mayor inversión, ya que se utiliza equipamiento complejo. En tal sentido, en la actualidad se están realizando varios estudios experimentales para poder tener información más cercana a nuestra realidad recolectando así diferentes datos los cuales nos podrían llevar a un avance en los niveles Tier (Ocas, 2019).

Según el inventario de gases de efecto invernadero (INGEI) en Perú, la agricultura genera el 15% de la emisión de los GEI. Dentro de la agricultura, encontramos que la fermentación entérica es la segunda causa de mayor emisión de GEI (Dongo, 2018). En la figura 1, se presenta la emisión de GEI de la agricultura en el Perú en el cual vemos que un 41.2 % proviene de la fermentación entérica.

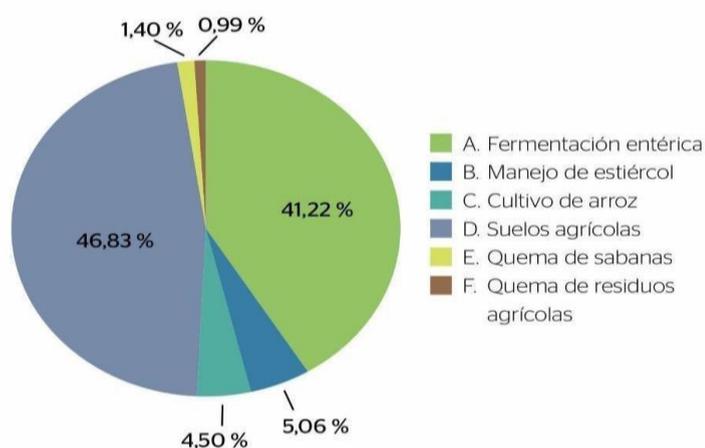


Figura 1. Emisiones de gases efecto invernadero de la categoría agricultura (MINAM, 2016).

Respecto a la cantidad emitida de los gases, en primer lugar, con un 76 %, se tiene al CO₂, en segundo lugar, con un 15 %, está el CH₄, generando una emisión de 25615 Gg CO₂eq y finalmente el N₂O, con 9%, equivalente a 14823 Gg CO₂eq (MINAM, 2016).

2.8 Producción de metano por la ganadería

Las actividades agrícolas y ganaderas contribuyen directamente a la emisión de GEI, siendo la mayor parte de estas emisiones ocasionadas por la ganadería, después del sector energético (Berra y Finster, 2002). Así, se estima que los animales domésticos, principalmente los rumiantes, son responsables del 15% de la producción de CH₄ global (Moss *et al.*, 2000).

La ganadería contribuye a la acumulación de CH₄, el cual es un potente gas con efecto invernadero, ya que su potencial de absorción de radiación es aproximadamente 21 veces superior al del CO₂ (Moss *et al.*, 2000). Asimismo, la ganadería produce N₂O, cuya capacidad calorífica es de 300 veces la del CO₂ (Berra y Finster, 2002).

El CH₄ es producto del proceso digestivo natural de los rumiantes, principalmente en su tracto gastrointestinal, pero también de la fermentación anaeróbica de sus heces. El CH₄ entérico es producido como resultado de la fermentación microbiana de los componentes alimenticios (Alvarado, 2018). El CH₄ es producido en los rumiantes predominantemente en el rumen (87 %), el cual es liberado por el animal mediante el eructo, así como en el intestino delgado y grueso (13 %) (Chino, 2020).

La conversión del material alimenticio a CH₄ en el rumen involucra la actividad de diferentes especies microbianas; siendo una pérdida de energía para la producción. El proceso de producción de CH₄ está a cargo microorganismos denominados metanógenos, los cuales pertenecen al dominio *Archaea* y son comúnmente llamados arqueas. Las arqueas metanógenas se encuentran en el tracto digestivo de los rumiantes y camélidos sudamericanos, de los cuales se ha identificado a *Methanobrevibacter millerae* como la especie más abundante en el estómago de la alpaca (St-

Pierre y Wright, 2012). Estos microorganismos tienen como aceptor final de electrones al carbono y su crecimiento se ve inhibido por el oxígeno. Estos microorganismos metanogénicos aprovechan el hidrógeno (H₂) que es producto de la fermentación de los alimentos, como fuente de energía para reducir al CO₂ a CH₄ como último paso de la fermentación entérica (Choquemamani, 2017).

Los factores que influyen en la metanogénesis son el pH, la concentración de ácidos grasos volátiles (AGVs) en el rumen, el tipo de dieta, la forma de alimentación del animal y la especie; mientras la cantidad de CH₄ producida dependerá de la cantidad de alimento ingerido y digerido (Johnson y Johnson, 1995). Existen tres rutas fisiológicas para la producción de CH₄:

- Ruta hidrogenotrófica: A partir de la reducción de dióxido de carbono con hidrógeno
- Ruta metilotrófica: a partir de compuestos de metilados (metanol y aminas metiladas)
- Ruta acetoclástica: a partir de la escisión del acetato (Quispe, 2017)

2.9 Técnicas para medir el valor nutritivo de los forrajes en rumiantes

Es importante conocer el valor nutritivo de los alimentos, debido a que contribuyen con la producción y el bienestar de los animales. El método más adecuado para medir el valor nutritivo de los alimentos es la digestibilidad *in vivo*; sin embargo, es complicado, costoso y laborioso, por ello se han desarrollado técnicas de digestibilidad *in vitro* (Vargas *et al.*, 2013) que permiten realizar la evaluación de la calidad nutritiva de los alimentos.

Desde hace más de cien años se vienen perfeccionando las diversas técnicas sobre los sistemas *in vitro* para fermentación ruminal debido a sus múltiples ventajas como por ejemplo el uso de pequeñas muestras, las diversas muestras que se pueden hacer en paralelo y la rapidez de sus resultados. Uno de los métodos más simples son los cultivos discontinuos, cuya metodología consiste en incubar líquido ruminal junto con una solución tamponada, en un ambiente de

anaerobiosis junto con una temperatura adecuada de 39 °C (Vargas *et al.*, 2013).

La técnica más difundida fue la de Tilley y Terry en 1963, este método describe la técnica para medir la degradación de la materia seca y orgánica, en el cual se incuban pequeñas cantidades de sustrato en diferentes tubos conteniendo inóculo ruminal, solución amortiguadora, minerales y una solución reductora; este es uno de los métodos más usados para medir la digestibilidad de algunos alimentos para rumiantes y en especial para forrajes (Givens *et al.*, 2000). Sin embargo, este método no proporciona información sobre el proceso y velocidad de la degradación en el rumen; por ejemplo, si tenemos 2 muestras que presentan la misma degradabilidad a 48 horas de incubación, no significa que ambas muestras demoraron todo ese tiempo para degradarse, una pudo ser más veloz que otra. Este es un factor a tener en cuenta, ya que si un alimento es degradado debe de aumentar su tasa de pasaje y por ende habría un aumento en el consumo voluntario (Givens *et al.*, 2000).

Por otra parte, la digestibilidad *in vivo* sólo nos permite estimar la digestibilidad en todo el tracto gastrointestinal; sin embargo, con la digestibilidad *in vitro* podemos observar la degradación del alimento solo del rumen, pudiendo cuantificar la cantidad de materia degradada solo en esa área (Vargas *et al.*, 2013).

Otra técnica es la digestibilidad *in situ* o *in sacco*, que consiste en el uso de una bolsa de nylon de la cual se conoce el tamaño del poro, la que se coloca con el alimento a evaluar directamente en el interior del rumen, por un número de horas, luego se pesa en seco para poder medir la cantidad de alimento que se degradó (Ørskov, 2000); sin embargo, esta técnica no es tan exacta para las primeras horas por la pérdida de peso debido a la solubilidad (Givens *et al.*, 2000).

2.9.1 Digestibilidad *in vitro*

La base de este método es simular bajo condiciones controladas en el laboratorio un ambiente ruminal, con la temperatura de 39°C, pH mayor a 6 y anaerobiosis, en un periodo no mayor de 96

horas (Crosby-Galván y Ramírez-Mella, 2018). Los sustratos forrajeros deben ser deshidratados y molidos a medidas de 1 mm aproximadamente para que se pueda permitir una mayor actividad microbiana, la mezcla debe de ser previamente saturada con CO₂ para evitar la pérdida de bacterias anaerobias, ya que estas bacterias son las que generan energía de fermentación de los carbohidratos, principalmente de la celulosa y el almidón, para formar los AGV, el CH₄, trazas de hidrógeno, entre otros. Cabe recalcar que esto solo recrea lo que ocurre en el rumen, mas no en todo el sistema digestivo (Vargas *et al.*, 2013).

La digestibilidad *in vitro* se ha usado para evaluar diferentes forrajes, pero debido al creciente interés en el cambio climático y a la contribución ganadera en los gases de efecto invernadero, recientemente se viene realizando modificaciones de este método para estimar la producción de CH₄, recolectando los gases y analizando el contenido de CH₄ del gas producido (Crosby-Galván y Ramírez-Mella, 2018).

2.9.2 Técnicas de producción de gas *in vitro*

Cuando se incuba el alimento con fluido ruminal bajo condiciones de anaerobiosis y temperatura similar a la del rumen, los carbohidratos son fermentados por los microorganismos, produciéndose AGV, acético (Ac), propiónico (Pr) y butírico y gases como el CO₂, CH₄ e H₂, al igual como ocurre *in vivo* en el rumen (Bonilla, 2012).

La relación molar Ac:Pr ha sido tradicionalmente utilizada para evaluar diferencias en la fermentación debidas al sustrato. Esto nos indica que los carbohidratos que se fermentan más rápido (solubles) van a producir mayor cantidad de Pr en relación al Ac. Caso contrario con los carbohidratos de degradación lenta (forrajes), que generen una mayor proporción de Ac y tendrán un aumento en la producción de CH₄ (Moss, 2000).

El desarrollo de la técnica de producción de gas *in vitro* viene desde hace muchos años atrás, esta permitió obtener los gases producto de la fermentación y evaluar los alimentos de acuerdo a la

cantidad y proporción de gases generados por el vegetal evaluado (Giraldo, Gutiérrez y Rúa, 2007).

La mayoría de estudios fueron mediciones manométricas, aunque también había métodos *in vitro* basados en gravimetrías que se definía en la medición de la desaparición de componentes del sustrato, lo cual no era un método tan exacto, ya que algunos sustratos solubles no necesariamente jugaban un papel en la fermentación. Durante los años se vieron diferentes observaciones, por ejemplo: En 1953, Mcbee observó que la tasa de fermentación depende de la dieta del animal y descubrió que hay algunos microorganismos que pueden degradar la celulosa y hemicelulosa, pero hay otros que solo pueden degradar la hemicelulosa. El-Shaly y Hungate en 1965 midieron nanométricamente la presión, para poder investigar los ácidos grasos volátiles, también observaron que durante la incubación corta aproximadamente de 6 a 8 horas el patrón de fermentación era muy similar al *in vivo*.

Menke en 1979 después de 89 experimentos observó una correlación similar entre la producción de gas *in vitro* y la digestibilidad *in vivo*. Theodorou en 1994 usó una aguja hipodérmica colocada en un tapón, en el cual se medía la presión, dentro de la botella se generaba gas y esto hacía que se desplace el émbolo, una vez que la presión dentro de la botella se igualaba a la atmosférica se medía cuánto se había desplazado, esta técnica era muy laboriosa y estaba en desuso, muy aparte la presión acumulada en la botella puede traer alteraciones en la fermentación microbiana. Estos métodos son de sistemas cerrados el cual no puede simular el efecto de los flujos de líquidos o sobre la actividad enzimática, por lo cual en los experimentos necesitaban una mezcla, una alta solución de tampón para mantener el pH durante todo el experimento, ya que no se puede reproducir las variaciones de pH que son típicas del rumen, el pH indicado debe ser 6,5 y 6,9 (Ørskov, 2000).

El sistema de flujo semicontinuo Rusitec es uno de los más conocidos y utilizados por diversos profesionales en sus experimentos de digestibilidad. Fue creado por Czerkawski y Breckenridge

en 1977. Este sistema consiste en recrear las condiciones ruminales para poder medir la degradación de forrajes (Vargas *et al.*, 2013). En el método de Rusitec se colocan por lo general bolsas de Nylon conteniendo una determinada cantidad de forraje puestas en contenedores que simulan las características del espacio ruminal; las botellas contienen válvulas en la cuales podemos inocular saliva artificial, simulando la rumia (Vargas *et al.*, 2013).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución y periodo de duración:

El trabajo se desarrolló en la Estación Experimental IVITA Marangani, el Laboratorio de Zootecnia y Producción Agropecuaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y el Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima Perú.

3.2. Descripción del material experimental

Se utilizaron doce alpacas, machos, adultos (3 a 5 años de edad), con un peso promedio de 60 kg, mantenidos en pasturas naturales de condición regular en una asociación de *Festuca dolichophylla* y *Muhlenbergia fastigiata*, *Alchemilla pinnata*, *Carex sp.* y *Plantago sp.*

3.3 Diseño experimental u observacional

3.3.1 Simulación manual de dieta:

Se colectaron muestras de las dietas seleccionadas por los animales a través de simulación manual. Después de dos días de pastoreo en el área asignada, se colectaron aquellas especies vegetales seleccionadas por el animal en 50 estaciones alimentarias, donde el observador se acercó lo suficiente para hacer la selección directa sin perturbar el comportamiento del animal.

La selección se realizó siempre a la misma hora y en el momento en que los animales presentan un pico de consumo. Los cortes del material vegetal se efectuaron simulando lo seleccionado por el animal. El material recolectado fue colocado en bolsas de papel debidamente identificadas y

remitidas al laboratorio. En el laboratorio se procedió al secado de las muestras y se almacenaron hasta su evaluación.

3.3.2 Fermentación *In vitro*:

Se pesó 0.5 g de muestra de cada alpaca, luego se colocó en 5 botellas de digestibilidad, las cuales tienen una capacidad de 120 ml, se adicionaron 50 ml de licor ruminal mezclado con saliva en una proporción de 1:4. Luego procedió a ser gaseado con CO₂ por 15 segundos, para evitar la ausencia de anaerobiosis, ya que la ausencia de esta genera la disminución de bacterias celulolíticas, al instante se procedió a sellar con tapas de jebe y aluminio. Se colocaron las botellas a una temperatura aproximada de 39°C en la estufa, tratando de replicar la temperatura corporal normal de la alpaca, agitando periódicamente disminuyendo el aumento de presión. Se procedió la medición luego de las 24 horas, con el transductor de presión de gas y el pH de cada tubo.

3.3.3 Toma de muestras:

Gases: se recolectó 15 ml de muestra del gas producido de cada botella de digestibilidad. Las muestras se almacenaron en tubos Vacutainer y se almacenaron hasta el análisis de CH₄.

Fluido digestivo: se tomaron 2 ml de muestra en tubos eppendorf que contenían una solución de ácido sulfúrico y se almacenó a -20 °C, hasta el análisis de amoníaco y ácidos grasos volátiles.

3.4. Procedimientos analíticos

3.4.1 Determinación de proteína

Se realizó la determinación de la proteína a través del método de Kjeldahl, el cual consta de convertir el nitrógeno en amonio, hirviéndolas en ácido sulfúrico, fijándose bajo la forma de sulfato de amonio. La cantidad de sulfato de amonio se determina agregando un exceso de hidróxido de sodio; el amonio puesto en libertad se recoge por destilación en ácido bórico, con un indicador, el borato de amonio que se forma es titulado con un ácido estandarizado (ácido

sulfúrico). Este método es para la medición de nitrógeno que contienen las muestras, luego es multiplicado por el factor 6.25. Este factor resulta de que las proteínas tienen como promedio 16% de nitrógeno.

a. Digestión

- Pesar 0,3, más o menos 0,090 de muestra. Colocarla en el tubo para digestión.
- Adicionar una pastilla de mezcla catalizadora y 6 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- Ingerir la materia orgánica hasta que el digesto tenga aspecto de un líquido transparente.

b. Destilación

- Disolver la muestra digerida en 25 ml de agua.
- Colocar en el extremo del condensador el matraz de Erlenmeyer con 25ml de ácido bórico al 3%.
- Adicionar al tubo con el digesto 25 ml de hidróxido de sodio.
- Destilar durante cuatro minutos.
- El amoniaco se recibe en la solución de ácido bórico.

c. Titulación y cálculos

- El destilado bajo la forma de borato de amonio se titula con ácido sulfúrico 0,1 N, previamente se adiciona tres gotas del indicador.
- El viraje del indicador de verde o violeta indica el término de la titulación.
- Se anota el gasto de ácido sulfúrico.

Cálculos

- Porcentaje (%) de proteína = $(\text{gasto} \times 14 \times 0,1 \times 6,25) / \text{muestra problema} \times 10$.
- 14 = peso molecular del nitrógeno.
- 0,1 = normalidad del ácido sulfúrico.
- 6,25 = factor de conversión de nitrógeno a proteínas.

3.4.2 Determinación de fibra cruda

Una muestra libre de humedad y grasa se somete a dos digestiones, una en ácido diluído y otra en álcali diluído. Los residuos orgánicos restantes se recogen en un crisol de filtro. La pérdida de peso después de incinerar la muestra se denomina fibra cruda.

Procedimiento

- Colocar 2g de muestra libre de grasa en un vaso de 600ml de capacidad.
- Adicionar 200 ml de ácido sulfúrico al 1,25%.
- Colocarlo sobre el calentador del extractor para hervirlo durante 30 minutos.
- Filtrar cuidadosamente a través de tela. Lavar la fibra con agua destilada caliente, hasta que la reacción ácida de tornasol desaparezca. Si la filtración es muy lenta, debido a la fineza de las partículas, filtrar por succión con una bomba de vacío.
- Transferir la fibra a un vaso de 600ml de capacidad, lavando la tela filtrante con 200ml de soda al 1,25%, y hervir el contenido a fuego suave durante 30 minutos.
- Poner una pequeña porción de asbesto en el fondo del crucible y filtrar la fibra. Lavar la fibra añadiendo agua destilada caliente, hasta que la reacción alcalina a tornasol desaparezca.
- Secar en una estufa el crucible con el contenido de fibra 60°C durante la noche. Enfriar en un desecador y pesar.
- Incinerar la fibra en mufla durante tres horas entre 700oC a 800oC. Enfriar en un desecador y pesar.
- Reportar la pérdida de peso equivalente a la fibra cruda.

3.4.3 Determinación de metano

En el Cuadro 3, se presentan los cinco patrones preparados para la determinación de CH₄, con

estos patrones se realizó la curva de calibración.

El procedimiento fue inyectar volúmenes diferenciados de CH₄ al cromatógrafo y se relacionó con el área determinada, determinando la curva de regresión lineal.

Cuadro 3. Correlación de la cantidad de metano y el área obtenida por el cromatógrafo de una muestra estándar.

Patrón	metano, ml	Estándar, μ	Área
1	0.05	500	
2	0.04	400	
3	0.03	300	
4	0.02	200	
5	0.01	100	

Análisis de muestras:

Se inyecta 0.5 ml de cada gas al cromatógrafo de gas (Shimadzu GC 14B; Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Germany). Se registró el área de la muestra y se determinó la concentración de la muestra a través de la curva de regresión determinada

3.4.4 Determinación de Amoniaco

Procesado de las muestras

Las muestras de fluido digestivo almacenadas se descongelan y se agitaron con el vórtex, se tomaron 2 mL de las muestras y se pasaron a tubos eppendorffs, luego se centrifugaron a 4°C durante 15 minutos

a 16000 g, después del sobrenadante se tomaron 0.8 mL para el análisis de AGV y otros 0.8 mL para el análisis del amoníaco y se pasaron a tubos eppendorffs nuevos.

En el cuadro 4, se presenta las concentraciones para la preparación de los patrones que se emplearon para hacer la curva de calibración.

Se preparó una solución madre 150 Mm utilizando como soluto $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Para ello se pesó 1 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (corregido al 99% de pureza) y se disolvió en un volumen final de 50 mL, con la solución madre se preparó para los diferentes patrones.

Cuadro 4. Concentraciones de solución estándar para determinar amoníaco

Patrón	Volumen solución madre, MI	Vol. en H ₂ O	Vol. total mL	Concentración de N ₂ mg/NL	Concentración De. N / 20 μ L
A	4.77	5.33	50	400 mg N/L	8
B	3.58	6.42	50	300 mg N/L	6
C	2.39	7.61	50	200 mg N/L	4
D	1.19	8.81	50	100 mg N/L	2
E	0.6	9.20	50	50 mg N/L	1

Preparación de las soluciones

1. Se preparó 2 L de la solución A Fenol nitroprusiato (Fenilnitroprusside). Para la creación de esta solución se utilizó 20 g de fenol y 100 mg de nitroprusiato sódico

2. Se preparan 2 L de la solución B Hipoclorito de sodio (sodium hypochloride). Para ello se usó 10 g de NaOH y 16.8 mL de hipoclorito de sodio.

Recordando que estas soluciones deben conservarse en refrigeración como máximo un mes.

Análisis de muestras:

Para los análisis de las muestras se preparan tubos de 10 mL de cada muestra, preparando un blanco para cada grupo de incubación. Luego se añadieron 20 uL de cada una de las muestras y de los patrones. En el caso del blanco se añadió 20 uL de H₂O destilada. Después se añadieron 5 mL de la solución A y otros 5 mL de la solución B en cada uno de los tubos, luego se incubaron a 37°C durante 20 minutos. Observamos que los colores en el interior de los tubos cambiaron a azul.

Se lee la absorbancia en el espectrofotómetro a 625 nm. Por cada tanda de incubación que se leyó utilizamos primero el blanco para poner el espectrofotómetro a cero. En el caso de los patrones mejor se empezó a leer por el más bajo para poder utilizar la misma cubeta.

3.4.5 Determinación de Ácidos grasos volátiles

La concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) se determinó mediante cromatografía de gases en un cromatógrafo Shimadzu GC 2010 equipado con un inyector automático, un detector de ionización de llama y una columna semicapilar TR-FFAP de 30 m x 0,53 mm x 1 μ m (Supelco, Barcelona, España).

Las muestras se descongelaron a 4°C y se centrifugaron a 16 000 x g durante 10 min a 4°C. Se mezcló con 0,8 mL del sobrenadante con 0,5 mL de una solución acidificante y desproteinizante (ácido metafosfórico (1%) y ácido crotónico (0,2%) en ácido clorhídrico 0,5 M). Luego la mezcla se dejó reposar 12 horas a 4°C y se volvió a centrifugar en las condiciones descritas anteriormente se pasó a viales para su análisis en el cromatógrafo

3.5.- Análisis estadístico

La información obtenida se presentó como promedio y desviación estándar.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Composición nutricional de la dieta de alpacas

La composición química de las dietas simuladas se presenta en el Cuadro 5. Se presenta información sobre los porcentajes de proteína, materia orgánica, fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina.

Cuadro 5. Composición (%) nutricional de la dieta de alpacas mantenidas en pasturas naturales durante la época de lluvia

Fracción Nutritiva %	promedio \pm DE
Proteína	9.38 \pm 3.53
Ceniza	9.10 \pm 1.44
Fibra detergente neutro	76.00 \pm 3.66
Fibra detergente ácido	37.85 \pm 1.89
Lignina	4.008 \pm 0.80

La información sobre la composición de la dieta en alpacas es escasa, existen pocos trabajos realizados al respecto. Este estudio es un acercamiento a las características de la dieta de alpacas a través de la simulación manual. Los resultados obtenidos muestran similitudes a estudios realizados de forma individual a pastos deseables consumidos por las alpacas (Chino, 2020). Sin embargo, las alpacas no consumen un solo pasto, sino van seleccionando los pastos deseables de acuerdo a la disponibilidad de la pastura (San Martín y Bryant, 1989). Por otro lado, los valores reportados en el presente estudio son mayores en proteína y menores en fibra en comparación con

la información sobre dieta de alpacas durante la época seca (Chino, 2020). La calidad de la dieta consumida por las alpacas es influenciada por diferentes aspectos medioambientales, como la temperatura, la precipitación pluvial, la radiación solar, etc. Durante la época de lluvia, en que se realizó el muestreo del presente estudio, los pastos dispusieron de agua y condiciones medioambientales favorables para su crecimiento. Esto explicaría las diferencias entre los niveles de proteína y fibra encontrados en el presente estudio respecto a los registrados por Chino en 2020.

En la época de lluvia se espera encontrar una mayor proporción de brotes de pastos que durante la época seca, consecuentemente los niveles de FDN y FDA son mayores en esta última. Sin embargo, los niveles de FDN, FDA y lignina observados en la presente investigación muestran que, aun siendo época de lluvia, los pastos contienen niveles elevados de dichos elementos. Esto podría ser debido a que los pastos acumularon estos materiales durante la época seca (Chino, 2020).

Conocer la composición de la dieta de las alpacas es importante para saber si se están cubriendo sus requerimientos nutricionales. Sin embargo, debido a la composición variada de la pastura natural y a las características selectivas de las alpacas, es difícil conocer de forma precisa la dieta que consumen (San Martín y Bryant, 1989). Frente a esto, la simulación manual se presenta como un método que se aproxima a estimar la dieta que consumen las alpacas. Para esto, se observa de forma directa las especies de pastos que consume el animal y se recoge una muestra de los mismos; procurando que el tamaño y cantidad tengan similitud a lo consumido por la alpaca, para poder tener los resultados precisos.

Respecto a los niveles de proteína de la dieta simulada en el presente estudio, se observa que se cubren los requerimientos de la especie (NRC, 2006). A pesar que durante la época de lluvia los pastos tienen mayores niveles de proteína, la selectividad de las alpacas hacia diversos pastos en diferentes proporciones explicaría por qué el nivel de proteína observado en esta investigación,

es similar al requerimiento mínimo descrito para la especie (NRC, 2006).

4.2 Parámetros digestivos de la dieta de alpacas

La producción de GEI por los animales está en función directa de la especie y el alimento que consumen. Este trabajo busca generar información sobre los GEI del alimento que consumen las alpacas durante la época de lluvias. Para la estimación de los GEI de la dieta se utilizó la técnica de producción de gas *in vitro*, la cual predice la fermentación de alimentos, evaluando la cantidad de gas producido, siendo este un método económico y práctico (Rymer *et al.*,2005).

Este es el primer acercamiento de la evaluación de la calidad de la dieta consumida por las alpacas en época de lluvias. Los parámetros fermentativos de la simulación manual de la dieta de alpacas en época de lluvia se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Parámetros fermentativos *in vitro* de la dieta de alpacas en pastoreo durante la época de lluvias

Parámetro	promedio ± DE
Digestibilidad <i>In vitro</i> (%)	53.83 ± 6.22
Producción de gases (ml/g MS)	73.75 ± 9.71
Metano (ml/g MS)	2.85 ± 1.02
Acético (μ mol)	1306.68 ± 265.4
Propiónico (μ mol)	348.16 ± 81.20
Relación acético/propiónico (μ mol/μ mol)	2.07 ± 1.73
NH ₃ - N (mg/L)	143.01 ± 30.91

La digestibilidad *in vitro* determinada por la simulación manual se encuentra dentro de los valores reportados para los pastos consumidos por las alpacas (San Martín y Bryant, 1989). Se debe tomar en cuenta que la digestibilidad está influenciada por las características del alimento y el método utilizado para su determinación (Bochi-Brum *et al.*, 1999). El principal componente del alimento que influye en la digestibilidad de rumiantes es su contenido de fibra, ya que a mayor contenido habrá una menor digestibilidad. Respecto al método utilizado, la digestibilidad *in vitro* se presenta como una alternativa ya que reduce la labor y el costo, pudiendo realizarse muchas determinaciones.

La técnica de producción de gases fue desarrollada para predecir la fermentación de los alimentos por rumiantes (Rymer *et al.*, 2005). En esta investigación se evaluó la dieta obtenida de alpacas consumiendo una pastura natural. La producción de gases obtenidos en esta evaluación fue menor a lo reportado en un estudio que se hizo a pastos deseables para alpacas (Chino, 2020). La razón para esta menor producción de gases puede ser que al evaluarse en conjunto las diferentes especies, algunas de ellas tengan propiedades que no permitieron una mayor producción de gases. La técnica de producción de gases está relacionada con la digestibilidad o el contenido de energía metabolizable del alimento (Mould, 2003), por lo que los resultados obtenidos van a expresar la cantidad de energía metabolizable de la dieta consumida por las alpacas.

El promedio de CH₄ obtenido en el presente estudio fue menor que el reportado por Chino (2020) en pastos deseables para alpacas de forma individual. Al respecto, se debe tomar en cuenta que se han identificado tres factores que determinan la emisión de CH₄ entérico: la materia orgánica fermentada, la eficiencia del crecimiento bacteriano y tipos de ácidos grasos volátiles (Bannink, 2010). En tal sentido, los altos niveles de fibra que contiene la dieta seleccionada en este estudio, ya que la naturaleza de los carbohidratos influye sobre la producción de CH₄ (Muños y Cantos 2019).

La información sobre producción de CH₄ en alpacas aún no es completamente conocida, ya que

algunos trabajos mencionan una menor producción que en los ovinos (Quispe, 2017) y otros que la emisión es la misma si se evalúa por unidad de materia orgánica digerida. Manifestando que la menor emisión por las alpacas es debido a su menor consumo de materia seca (Chino, 2020).

La producción del ácido graso volátil acético fue mayor a la de propiónico, coincidiendo la información de que a mayor contenido de fibra mayor producción de ácido graso acético y por ende la relación de ácido acético/propiónico obtenido. Al respecto se reporta que dietas con altos niveles de concentrado y bajo niveles de fibra decrece la relación acetato/propionato (McAllieste *et al.*, 1996).

La producción de CH₄ en rumiantes está negativamente relacionado con la utilización de energía (Holtshausen *et al.*, 2008); sin embargo, las alpacas presentan mayor eficiencia en el uso de pastos de baja calidad (San Martín y Bryant, 1989). Los pastos de baja calidad presentan mayores niveles de fibra cruda y por ende mayor emisión de CH₄. Estas premisas deben ser tomadas en cuenta cuando se estima la emisión de CH₄ por alpacas, no olvidando el papel de los diferentes pastos que consumen las alpacas en las condiciones naturales.

Los niveles de NH₃ en el contenido final de la digestión, representó los niveles de nitrógeno de la dieta después de haber sido utilizado por las bacterias presentes en el inoculo que se utilizó. Los resultados obtenidos para la dieta simulada muestran la influencia no solo de la composición química del alimento, un tema de interés es que muchos de los vegetales presentan metabolitos secundarios y estos tienen una gran influencia sobre la producción de CH₄ y ácidos grasos volátiles. Estos metabolitos secundarios son una respuesta natural de los vegetales a las condiciones climáticas donde se desarrollan. Con la producción de gases producida se estimó la energía metabolizable de la dieta consumida por las alpacas, esta fue de 3.49 ± 0.31 MJ/kg MS.

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se realizó el estudio se concluye:

- La técnica de simulación manual usada para la recolección de la dieta seleccionada por las alpacas es útil para la estimación de la calidad nutritiva y los parámetros digestivos.
- La calidad nutricional de la dieta seleccionada por las alpacas durante la época de lluvia es de mediana calidad en base a los resultados obtenidos en digestibilidad y contenido proteico.
- Los parámetros fermentativos obtenidos fueron coherentes con calidad nutricional de la dieta seleccionada.

VI. BIBLIOGRAFÍA

1. Almaraz, Isaac, Soriano, Ramón y Torres-Cardona, Guadalupe & Arias-Margarito, Ladislao. (2018). Cambio climático y ganadería: El papel de la agroforestería. Vol. 11. Pg 70 – 74.
2. Alvarado, V, 2018. Emisión de metano entérico de vacas en lactación con pastos cultivados en zona altoandina - estación lluviosa y seca. tesis para optar el grado de maestro magister scientiae en nutrición Lima: Univ. Nac. Agraria La Molina. 90p.
3. Bannink A. 2010. Theoretical impact of NDF quality on enteric methane production. in the Role of plant cell walls in dairy cow nutrition. International symposium. The Netherlands.21- 23 p.
4. Berra, G. y Finster, L .2002. Emisión de gases de efecto invernadero; la influencia de la ganadería argentina. Cadena de la Carne Vacuna, Tecnologías para nuevos escenarios, IDIA XXI (2). p. 212-215.
5. Bonilla J, lemus C.2012 emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático. Revisión. Rev Mex Cienc Pecu ;G3(2) : 2015- 246 .
6. Bochi-Brum, O., M.D. Carro, C. Valdés, J.S. González y S.López. 1999. Digestibilidad in vitro de forrajes y concentrados: efecto de la ración de los animales donantes de líquido ruminal. Arch. Zootec. 48: 51-61p.
7. Crosby-Galván, M.M. Ramírez-Mella, M. 2018. Técnica de producción de gas *in vitro* para estimar la producción de metano. Agroproductividad: Vol. 11, Núm. 2, febrero.

2018. pp: 64-69 p.
8. Chino L. 2020. Relación entre composición química y la producción de metano in vitro de pastizales altoandinos consumidos por alpacas. Tesis para optar al grado de magíster. Lima: Univ. Nac. Agraria La Molina. 84p.
 9. Choquemamani, M. 2017. Emisión de metano entérico en llamas al pastoreo en praderas andinas. Tesis de médico veterinario y zootecnista. Puno: Univ. Nac. Del Altiplano. 113p
 10. Dongo M. 2018. Evaluación de las metodologías de estimación de emisiones de gases de efecto invernadero y resultados actuales en el Perú. Trabajo monográfico para optar por el título de Ingeniera ambiental. Lima: Univ. Nac. Agraria La Molina. 67p.
 11. FAO. 2015. Estimación de emisiones de gases de efecto invernadero en la agricultura. Un manual para abordar los requisitos de los datos para los países en desarrollo. Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia . 193 p.
 12. FAO. 2019. Cambio climático y seguridad alimentaria y nutricional en América Latina y el caribe. Santiago de Chile. 56 pp.
 13. Flórez A, Malpartida E, San Martín F. 1992 .Manual de Forraje para Zonas Andinas Áridas y Semiáridas. Universidad de California – Instituto de Investigación Agropecuaria y Agroindustrial (INIAA). 281 p.
 14. García W, Pezo Danilo, San Martín F, Olazabal J y Febres F. 2005. Manual técnico alpaquero. Lima. 105p
 15. Giraldo L , Gutiérrez L , Rúa C. 2007. Comparación de dos técnicas *in vitro e in situ* para estimar la digestibilidad verdadera en varios forrajes tropicales. Rev Col Cienc Pec 2007; 20:269-279 p .
 16. Givens I. D. ,Owen E, Omed H. M, Axford R. E. F. 2000. Forage Evaluation in ruminant nutrition livestock production. CABI .UK. p 496.
 17. Holtzhausen N, Fitzgerald K, Thakur I, Jack A , Rolfe M, Pit S. (2020). Swipe-based dating applications use and its association with mental health outcomes: a cross-sectional study. BMC Psychology.13p

18. IPCC,2014. Climate Change: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp
19. Jaurena G, Juliarena P y Erracart P. 2019. Causas y determinantes de las emisiones de gases de efecto invernadero en la ganadería. Revisión. Revista argentina de producción animal. Vol 39 N° 2: 43-60 (2019)
20. Johnson K. A , Johnson D. E. Emisiones de metano del ganado, *Journal of Animal Science* , volumen 73, número 8, agosto de 1995, páginas 2483–2492.
21. McAllister, T.A., Okine, E.K., Mathison, G.W. & Cheng, K.-J. 1996. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science* 76, 231-243p
22. Ministerio de Agricultura y Riego del Perú. 2018. La situación de la alpaca en el Perú. Lima: MINAGRI. 3p
23. Ministerio de Agricultura y Riego del Perú. 2019. Perú y el cambio climático. Tercera Comunicación Nacional del Perú a la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático Lima: MINAGRI. 329p.
24. Ministerio de Agricultura y Riego del Perú.2019. Potencial productivo y comercial de la alpaca. Lima: MINAGRI. 57p
25. Ministerio de Ambiente del Perú. 2016. Inventario Nacional de Gases de Efecto Invernadero del año 2016 y actualización de las estimaciones de los años 2000, 2005, 2010, 2012y 2014. Lima. MINAM. 478p.
26. Moss A, Jouany J, Newbold J. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de zootechnie, INRA/EDP Sciences*, 49 (3), pp.231-253.
27. Moscoso J. 2017.Producción de metano en vacunos al pastoreo suplementado con ensilado, concentrado y taninos en el altiplano peruano en época seca. *Rev Inv Vet Perú* 2017; 28(4): 822-833.

28. Muñoz M., Camila y Canto M., Francisco. 2019. Nutrición y alimentación de rumiantes [en línea]. Osorno: Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias disponible en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/6874> (Consultado: 8 marzo 2021)
29. Ocas P, 2019. Emisión de metano en dos razas de vacunos lecheros (Holstein y Brown swiss) con dos tipos de alimento (pasturas y pasturas más concentrado). Tesis de Ingeniero Ambiental. Cajamarca: Univ. Nac. De Cajamarca. 79p
30. Ørskov. 2000. The In Situ Technique for the Estimation of Forage Degradability in Ruminants". En: D. I. Givens, E. Owen, R. F. E. Axford (eds.). Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. Cabi Publishing, pp. 175-188.
31. Quispe N. 2017. Emisión de metano entérico en alpacas al pastoreo en praderas andinas. Para optar por el título profesional de Médico veterinario y zootecnista. Universidad nacional del altiplano - puno facultad de medicina veterinaria y zootecnia. 96 p.
32. Quispe M. 2019. Influencia del día y la noche en la emisión de metano en llamas al pastoreo en la época de lluvia en el centro experimental la Raya. Cusco. Uni. Nac. De San Antonio abad del Cusco.
33. Quispe E. 2016. Efecto del Pre- pastoreo con vacunos sobre las dietas de alpacas y ovinos en pastizales naturales. Tesis para optar al grado de magíster. Lima: Univ. Nac. Agraria La Molina. 96p.
34. Rymer C, Huntington J. A , Williams B. A, Givens D. I .2005. In vitro cumulative gas production techniques: History, Methodological considerations and challenges. Animal Feed Science and Technology, Volumes (123–124): 9 - 30p.
35. San Martín, F. 1991. Alimentación y nutrición. En: Fernández-Baca, S. Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. FAO. Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Santiago, Chile. Pp. 213-261
36. San Martín, F. 1994. Avances y alternativas de alimentación para los camélidos sudamericanos. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. Julio - diciembre 1994, Vol. 7 N° 2.

37. San Martin, F. y Bryant, F. 1987. Nutrición de los CSA, estado actual de nuestro conocimiento. Art. Téc. T-9-505. College of Agricultura. Science. Texas. University. 67 p.
38. San Martin, F. ; Bryant, F.C.1989. Nutrition of domestic South American llamas and alpacas. Small Ruminant Research, Volume 2, Issue 3, September 1989. 191-216 p.
39. Sato A. 2017. Cultura, Ciencia y Tecnología. ASDOPEN-UNMSM / N° 11. 3- 10p.
40. St-Pierre B y Wright A . 2012. Molecular analysis of methanogenic archaea in the forestomach of the alpaca (*Vicugna pacos*). Diversity of gut methanogens in herbivorous animals. Animal : an international journal of animal bioscience. 7. 1-8.
41. Vargas-Bayona J, Mejía-Porras G, Bedoya-Mashuth J, Gómez-Patiño JF. Estimación de la técnica in vitro de gases frente a otras técnicas de digestibilidad. Spei Domus. 2013; 9(18): 59-70p.
42. Vargas, J, Cárdenas. 2012. Emisión de metano entérico en rumiantes en pastoreo. Zootech. 61: 51 – 66.
43. Vázquez MF, Ku-Vera JC, Emisiones de metano por fermentación entérica de la ganadería bovina de México: la importancia de contar con inventarios nacionales precisos y de estrategias viables de mitigación. Elementos para Políticas Públicas. Volumen 4, Número 1, enero-abril de 2020, Ciclo del Carbono y sus Interacciones: 13 – 26 p.
44. Villar M. 2019. Emisión de metano entérico en ovinos alimentados con raciones de diferentes niveles de energía. Tesis para optar por el grado de magíster en nutrición. Lima: Univ. Nac. Agraria La Molina. 67p.