

Mediciones de metano y bióxido de carbono usando la técnica de covarianza de vórtices en ganado lechero semiestabulado en Sonora, México

Methane and carbon dioxide measurements using the eddie covariance technique in semi-stabled dairy cattle in Sonora, Mexico

Julio Cesar Rodríguez¹, Fernando Paz Pellat^{2‡}, Christopher Watts¹, Carlos Lizárraga Celaya¹, Enrico Yépez González³, Guillermo Jiménez Ferrer⁴, Alejandro Castellanos Villegas¹, Cesar Hinojo Hinojo¹ y Carlos Eduardo Macías Vázquez¹

¹ Universidad de Sonora. Blvd. Luis Encinas y Rosales S/N, Col. Centro. 83000 Hermosillo, Sonora, México.

² Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. 56230 Texcoco, Estado de México, México.

‡ Autor responsable (ferpazpel@gmail.com)

³ Instituto Tecnológico de Sonora. 5 de Febrero 818 Sur, Col. Centro. 85000 Ciudad Obregón, Sonora, México.

⁴ El Colegio de la Frontera Sur. Periférico Sur S/N, María Auxiliadora. 29290 San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México.

RESUMEN

La agricultura (incluyendo ganadería) es considerada como una de las principales fuentes de gases efecto invernadero. Por lo cual, el monitoreo de los gases efecto invernadero (GEI) en dicha actividad es necesario para lo cual existen diversas metodologías. La técnica de covarianza de vórtices es una de ellas permitiendo el análisis de GEI de manera continua. Acuerdo con esto, se planteó la instalación y evaluación de un sistema GHG-2 para el monitoreo de CH₄ y CO₂ en un hato lechero en un sistema semi-estabulado en Sonora. Los resultados muestraron que el GHG-2 permite evaluar el comportamiento continuo de los flujos CH₄ y CO₂ observándose picos de ambos gases cuando el ganado estuvo presente. Asimismo, permitió corroborar la existencia de una alta correlación relación entre ambos GEI (CH₄:CO₂), similares a estudios previos, lo que permite utilizar esta razón para estimar las emisiones de metano en forma indirecta a través de balances energéticos para calcular CO₂. Una de las limitaciones de esta técnica en sistemas confinados o semiconfinados es la presencia de material particulado en la atmósfera que obliga a una supervisión y mantenimiento frecuente; así como el alto consumo de energía, lo cual obliga a considerar en el proyecto un adecuado suministro de fluido eléctrico mediante

paneles solares y acumuladores, si no se cuenta con una fuente continua de electricidad.

Palabras claves: ganadería, GEI, sistema GHG-2, razón CH₄:CO₂, material particulado.

SUMMARY

Agriculture (including livestock) is considered one of the main sources of greenhouse gases. Monitoring greenhouse gases (GHG) is necessary in this activity, and there are several methodologies. One of these methodologies is the eddie covariance technique, which can analyze GHG in a continuous manner. Accordingly, the installation and evaluation of a GHG-2 system was proposed for monitoring CH₄ and CO₂ in a dairy herd in a semi-confined system in Sonora. The results show that the GHG-2 can evaluate the continuous behavior of the CH₄ and CO₂ emissions, observing peaks of both gases when the cattle were present. It also corroborated the existence of a good relationship between both GHG (CH₄:CO₂), similar to previous studies, where this ratio was used to estimate methane emissions indirectly through energy balances to calculate CO₂. One of the limitations of this technique in confined or semi-confined systems is the presence of particulate matter in the atmosphere that requires frequent monitoring

Cita recomendada:

Rodríguez, J. C., F. Paz Pellat, C. Watts, C. Lizárraga Celaya, E. Yépez González, G. Jiménez Ferrer, A. Castellanos Villegas, C. Hinojo Hinojo y C. E. Macías Vázquez. 2019. Mediciones de metano y bióxido de carbono usando la técnica de covarianza de vórtices en ganado lechero semiestabulado en Sonora, México. *Terra Latinamericana* 37: 69-80.
DOI: <https://doi.org/10.28940/tl.v37i1.412>

Recibido: mayo de 2018.

Aceptado: noviembre de 2018.

Publicado en *Terra Latinamericana* 37: 69-80.

and maintenance of the equipment, as well as the high consumption of energy, which forces us to consider solar panels and batteries to supply an adequate flow of electricity if another continuous source of electricity is not available.

Index words: *livestock, GHG, GHG-2 system, CH₄:CO₂ ratio, particulate material.*

INTRODUCCIÓN

Las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) por actividades antropogénicas han causado interferencias con el sistema clima, provocando el calentamiento global (IPCC, 2013). Entre los sectores que contribuyen a las emisiones globales de GEI, se encuentra la agricultura (actividades agrícolas y ganaderas) que es parte importante de causar el calentamiento global, donde los principales GEI son el bióxido de carbono (CO₂), el metano (CH₄) y el óxido nitroso (N₂O).

El metano tiene un potencial de calentamiento 28 veces el del bióxido de carbono (IPCC, 2013), por lo que su impacto en el sistema clima es de gran relevancia. En el sector agrícola, la producción de metano por la fermentación entérica de los animales y el manejo de excretas genera entre el 35-40% de las emisiones antropogénicas totales de este gas (FAO, 2006). Algunos autores como Goodland y Anhang (2009) han estimado que el subsector ganadero contribuye con el 51% de las emisiones antropogénicas totales de GEI, enfatizando que es necesario tomar medidas para controlar esta fuente de emisiones. Estas últimas estimaciones han sido cuestionadas por tener metodologías sesgadas y sin soporte científico adecuado (Herrero *et al.*, 2011).

El ganado bovino (para producción de leche y carne), y sus procesos de industrialización y venta, producen el 65% de los GEI y el resto se reparte entre cerdos (9%), aves (8%), búfalos (8%) y otros pequeños rumiantes (6%) (FAO, 2006).

Como parte de sus compromisos ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC), México ha presentado cinco comunicaciones nacionales, junto con los inventarios de GEI. La producción de metano en el sector agricultura de México, según las últimas tres comunicaciones nacionales (INE-SEMARNAT, 2006, 2009, 2012), representa entre el 57 y el 86% de las emisiones totales, aunque las estimaciones han sido realizadas

con diferentes fuentes de datos y metodologías, por lo que tienen altas incertidumbres (Saynes *et al.*, 2016), donde la fermentación entérica del ganado representa entre el 41 y el 95% del total del sector agrícola (Saynes *et al.*, 2016). Estas aportaciones han sido actualizadas en el Informe Bienal de México ante la CMNUCC para quedar en 63.8% (INECC-SEMARNAT, 2015). Saynes *et al.* (2016) han señalado que es necesario contar con información nacional para reducir las incertidumbres en los factores de emisión, e inventarios de ganado, del subsector para tener datos confiables y precisos para fundamentar políticas de mitigación en el país en este sector.

El crecimiento poblacional a nivel mundial y los requerimientos de alimento asociados plantean que el sector agrícola, particularmente el de la ganadería, seguirá en expansión para satisfacer las demandas (FAO, 2017); aunque las proyecciones de crecimiento señalan que se sobrepasaran los umbrales de sostenibilidad de la actividad (Pelletier y Tyedmers, 2010), generando mayor presión sobre los procesos que se asocian al calentamiento global, el ambiente y la alimentación. La población mundial de rumiantes es dominada por el ganado bovino con alrededor de 1 350 billones de animales, donde Latinoamérica cuenta con el 29.1%, Asia con el 28.4% y África con el 18.6% (Robinson *et al.*, 2011). En México la población de ganado bovino en los últimos 10 años se ha incrementado en un 7%, pasando de 31.1 a 33.5 millones de animales, de los cuales el ganado para carne aumento en un 7% y lechero en 10%, respectivamente (SIAP, 2017). México exporta anualmente cerca de un millón de animales en pie a EUA para su engorda (Peel *et al.*, 2010). Sonora cuenta con una población de 1.51 millones de cabezas de ganado, donde alrededor del 1% corresponde a vacas lecheras (SIAP, 2017) y, de acuerdo con el último inventario de GEI del estado, dentro del sector agricultura la fermentación entérica es la principal fuente de emisión de CH₄ (Chacón *et al.*, 2010).

El metano emitido por el ganado varía entre 2 y 12% de la ingesta de energía bruta de los alimentos consumidos (Johnson y Johnson, 1995), por lo que una reducción de estas emisiones reditúa en una mayor eficiencia en la conversión alimenticia del ganado. El Panel Intergubernamental sobre el Cambio Climático (IPCC, por sus siglas en inglés) ha establecido metodologías para la estimación de las emisiones de metano del subsector ganadero, basadas en la proporción de la energía bruta del alimento ingerido

por el ganado que es convertida a metano y se conoce como factor Y_m (IPCC, 2006). Los factores de emisión del nivel 1 (tier 1, en inglés) del IPCC (2006) usan valores de defecto por climas y regiones, los cuales han sido analizados recientemente concluyéndose que subestiman las emisiones de metano en alrededor del 11% (Wolf *et al.*, 2017).

En América Latina los esfuerzos en el subsector ganadero se han orientado principalmente a la obtención de factores de emisión e inventarios de GEI (Benouda *et al.*, 2017), dadas las altas incertidumbres que prevalecen al utilizar factores de emisión nivel 1 del IPCC. Algunas estimaciones realizadas en México usando modelos predictivos de las emisiones de metano de la ganadería (Castelán-Ortega *et al.*, 2014; Rendón-Huerta *et al.*, 2014) muestran que las emisiones de los inventarios nacionales de GEI asociados a las comunicaciones nacionales están fuertemente subestimadas (nivel 1: 73 kg CH₄ año⁻¹ por animal contra 116 kg CH₄ año⁻¹ por animal), por lo que es necesario contar con factores de emisión adecuados a las condiciones de México. En este sentido, se han realizado esfuerzos recientes en México para medir en cámaras de respiración las emisiones de metano del ganado en el Sur-Sureste del país y su relación con la ingesta de alimentos (Ku-Vera *et al.*, 2018), para tener información de factores de emisión locales.

Técnicas de Medición de Metano en la Ganadería

Para la medición de metano (y otros gases) en ganadería se han utilizado diferentes técnicas (Storm *et al.*, 2012; Goopy *et al.*, 2016), entre las que destacan las cámaras de respiración, el trazador SF₆ y las técnicas micrometeorológicas.

Las cámaras de respiración son el estándar, ya que controlan las condiciones en los animales al confinarlos en pequeños espacios donde son medidos los flujos de gases, sujetos generalmente a dietas controladas. Las cámaras de respiración miden las emisiones de los gases eructados y los provenientes de las excretas de los animales. El uso de cámaras de respiración ha sido criticado por crear un ambiente artificial, pudiendo inducir estrés en los animales y sesgar las mediciones (Johnson *et al.*, 1994; Storm *et al.*, 2012), además de que no considera condiciones de manejo del ganado.

Una alternativa al uso de las cámaras de respiración en ambientes confinados es el uso del trazador hexafluoruro de azufre (SF₆) introducido por

Johnston *et al.* (1994), donde los animales pastorean en condiciones normales, instrumentadas por un sistema de tuberías de permeación para las mediciones de los gases eructados. Las emisiones de metano medidas con SF₆ son generalmente menores a las de las cámaras de respiración (Grainger *et al.*, 2007; Harper *et al.*, 2011), aunque con resultados comparables entre sí (Pinares-Patiño *et al.*, 2007; Pinares-Patiño y Clark, 2008). Las subestimaciones con la técnica SF₆ pueden ser explicadas, en parte, al no considerar las emisiones de las excretas de los animales, que pueden representar hasta un 15% del total (Hindrichsen *et al.*, 2005). La técnica de SF₆ parece sobreestimar las emisiones de CO₂ (Boadi *et al.*, 2002; Pinares-Patiño *et al.*, 2007).

Las mediciones con SF₆ muestran una mayor variabilidad que las de las cámaras de respiración, tanto para una dieta dada como entre animales (Pinares-Patiño y Clark, 2008). Ambas técnicas son de carácter intrusivo y consideran factores externos en la determinación de las condiciones de manejo de los animales y su alimentación; además de ser aplicables a nivel de individuos y no de grupos. Las técnicas micrometeorológicas (Harper *et al.*, 2011; McGinn, 2013) son del tipo no intrusivo y permiten las mediciones de metano, y otros gases, en condiciones representativas de manejo y alimentación y a nivel de grupos de animales; aunque su área de medición es dependiente de la velocidad y dirección del viento, principalmente. Las mediciones con técnicas micrometeorológicas y con cámaras de respiración son similares, aunque las mediciones con las primeras muestran una alta variabilidad en relaciones a las últimas (Tomkins *et al.*, 2011). Las técnicas micrometeorológicas, además de no ser intrusivas, tienen la ventaja de que la fuente de emisiones está a una distancia alejada de la fuente de medición, por lo que la sensibilidad de las emisiones calculadas disminuye (McGinn, 2013). El uso de estas técnicas permite obtener emisiones promedio en condiciones naturales y representativas de manejo, que es un requerimiento en los inventarios nacionales de GEI (McGinn *et al.*, 2006).

Entre las técnicas micrometeorológicas está la denominada Covarianza de Vórtices (EC, por sus siglas en inglés), que ha sido utilizada para medir metano con animales en pastoreo (Tomkins *et al.*, 2011; Felber *et al.*, 2015) y estabulados (Baum *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 2015; Prajapati y Santos, 2017).

Las mediciones de flujos de energía y materia en forma directa en condiciones naturales han sido

realizadas usando la técnica de EC (Baldocchi *et al.*, 1988; Verma, 1990). Con esta técnica, las mediciones de flujos y de materia (dirección vertical; es decir, intercambio con la atmósfera) se realiza a través de la covarianza de la velocidad del viento y la variable de interés, cuyas observaciones tienen áreas de influencia (*footprints*, en inglés) dinámicas que varían en función de la altura de los sensores, velocidad y dirección del viento, rasgos morfo-estructurales de las fuentes de emisión (y obstáculos) y condiciones de estabilidad de la atmósfera (Schmid, 2002). La técnica de EC requiere de condiciones de homogeneidad de las fuentes de emisión, topografía plana y un *fetch* (distancia recorrida por el viento sin obstáculos) adecuado (Baldocchi *et al.*, 1988; Verma, 1990).

La Figura 1 muestra el concepto del footprint de las mediciones de flujos (Q_η) medidos por un sensor a la altura z_m , donde estos son promediados usando la función f que define la proporción de un flujo individual del medio con relación al total medido por el instrumento (η).

El uso de la técnica de EC en las mediciones de metano de ganado en condiciones naturales (pastoreo) o estabuladas tiene retos importantes por las fuentes móviles de emisiones (ganado) (Baldocchi *et al.*, 2012). En condiciones de ganado estabulado o semiestabulado, los requerimientos de la aplicación de

la técnica de EC no se cumplen cabalmente (establos complejos, fuentes no uniformes, *fetch* limitado), por lo que es necesario considerar algún modelo de footprint para tener en cuenta estas condiciones en las estimaciones de los gases (Baum *et al.*, 2008; McGinn, 2013). En lo general, la consideración de las condiciones de estabilidad atmosférica, intensidad y dirección del viento y movimiento de los animales mejora las estimaciones de metano (Baum *et al.*, 2008; Felber *et al.*, 2015; Prajapati y Santos, 2017).

Con relación a la operación de un sistema de EC, es práctica común la integración de las mediciones en períodos de tiempo que van de minutos a horas. En el caso de las mediciones de metano de la ganadería, el uso de intervalos de 30 min ha resultado adecuado (Baum *et al.*, 2008; Felber *et al.*, 2015), con intensidades de medición de 10 Hz (Sun *et al.*, 2015), suficientes para considerar pequeños vórtices.

Un problema asociado a las mediciones en ganado estabulado o semiestabulado es el relacionado con las partículas de polvo, que son comunes en estas condiciones (Hiranuma *et al.*, 2011; Bonifacio *et al.*, 2012). El nivel de ruido en las mediciones de metano es dependiente de la limpieza de los espejos del sistema EC (Felber *et al.*, 2015). Por ejemplo, Prajapati y Santos (2017) reportan una pérdida del 4% de las mediciones por problemas de partículas de polvo.

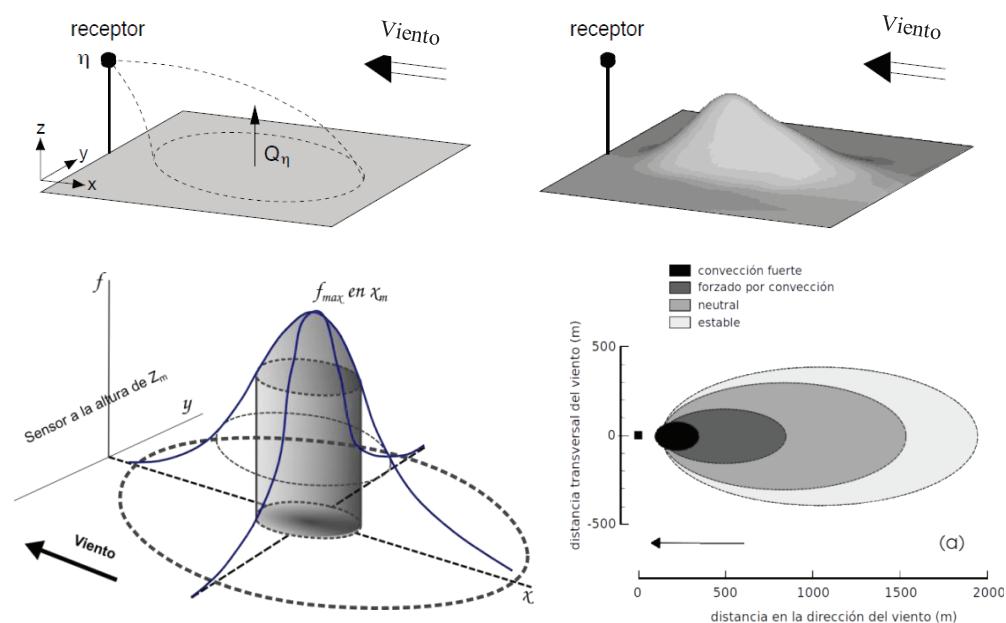


Figura 1. Concepto de footprint y su variación en función de la condición de estabilidad atmosférica.
Figure 1. Concept of footprint and its variation depending on the condition of atmospheric stability.

Razón CH₄:CO₂ en las Emisiones de la Ganadería

Las emisiones de metano se originan completamente de la fermentación entérica de los rumiantes, mientras que las emisiones de bióxido de carbono provienen de la respiración animal (metabolismo de nutrientes) y una parte (alrededor del 20%) de la respiración microbiana en el rumen (Hoernicke *et al.*, 1965; Vermorel, 1995). La evidencia experimental señala que gran parte de los gases eructados son inspirados en primer lugar por los pulmones y después expirados en conjunto con los gases de la respiración (Hoernicke *et al.*, 1965). La energía calorífica se produce por la oxidación de nutrientes resultante del consumo de oxígeno (O₂) y la producción de CO₂ (McLean y Tobin, 1988), por lo que el gasto de energía de los animales puede ser predicho en función de la producción de CO₂ o consumo de O₂ (Brower, 1965). El uso del CO₂ como un posible trazador para metano está influenciado por los mismos factores definidos para los requerimientos de energía de los animales (cantidad y calidad del alimento, peso y condición del animal, clima, etc.). Las emisiones de CH₄ y CO₂ están correlacionadas con la ingesta de alimentos y la producción de leche en vacas lactantes (Kirchgessner *et al.*, 1991; Kinsman *et al.*, 1995).

Las mediciones de CO₂ en la ganadería han sido realizadas por mucho tiempo para determinar los requerimientos de ventilación en instalaciones de manejo animal (Pedersen *et al.*, 2008). De mediciones conjuntas de CH₄ y CO₂ resalta que los patrones temporales son similares (Kinsman *et al.*, 1995; Hamilton *et al.*, 2010; Leytem *et al.*, 2010), por lo que se han establecido relaciones lineales del tipo CH₄ = u + vCO₂, donde u representa el umbral (CO₂) a partir del cual se detecta CH₄ (Pinares-Patiño *et al.*, 2007; Ngwabie *et al.*, 2009; Bjerg *et al.*, 2011; Aubry y Yan, 2015; Lee *et al.*, 2017). Los coeficientes de correlación de la relación generalmente han sido altos, R² > 0.9 (Ngwabie *et al.*, 2009; Bjerg *et al.*, 2011; Aubry y Yan, 2015), aunque en otras ocasiones han sido menores a 0.6 (Pinares-Patiño *et al.*, 2007; Bjerg *et al.*, 2011).

Madsen *et al.* (2010) propusieron el uso de la razón CH₄:CO₂ para definir al CO₂ como un gas trazador en las estimaciones de metano; aunque Aubry y Yan (2015) argumentan que es necesario contar con más datos para establecer la relación. Las emisiones de CO₂ son mayores en ganado en pastoreo (mayor gasto de energía) que en condiciones estabuladas (Aubry

y Yan, 2015), por lo que se requiere considerar esta situación en la razón CH₄:CO₂; además de que esta razón es variable entre animales (Lassen *et al.*, 2012) y dietas (Lee *et al.*, 2017). De la discusión previa, los objetivos de esta contribución fueron: (1) evaluar la operatividad de un sistema de EC para mediciones de metano y bióxido de carbono en condiciones de ganado semiestabulado; (2) evaluar las condiciones micrometeorológicas (velocidad y dirección del viento) en el sitio de estudio; (3) realizar mediciones de flujos de metano y bióxido de carbono; y (4) analizar la razón CH₄:CO₂ obtenida en las mediciones conjuntas. Este trabajo no pretendió realizar estimaciones de emisiones de metano del ganado a nivel individual o de grupo, solo analizar la estabilidad de la relación CH₄:CO₂. El principal enfoque fue analizar el funcionamiento del sistema y sus problemas asociados.

La información y conocimiento obtenido en la operación, relativamente corta, del sistema de EC permitirá realizar correcciones en su implementación, para realizar mediciones de flujos que sean confiables y precisas, bajo condiciones de ganado semiestabulado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del Sitio e Instrumentación

El establo ganadero se encuentra ubicado en el Departamento de Agricultura y Ganadería (DAG) de la Universidad de Sonora en Hermosillo, México (29.09° N y 111.13° O). En el periodo de análisis el número de vacas varió de 10 a 46 por semana (Figura 2). La productividad de leche por semana está mostrada en la Figura 2. Las vacas son de raza Holstein/Jersey, pastoreadas en praderas de zacate ryegrass y traídas para su ordeña por la mañana (nominalmente a las 5:30 am) y por la tarde (nominalmente a las 5:30 pm); aunque es común que se utilicen otros horarios (ver Figura 5). El periodo de medición utilizado en este trabajo fue de noviembre a diciembre del 2017. Una pequeña cantidad de animales jóvenes se mantienen en los corrales todo el día. Desafortunadamente, el control detallado del pastoreo y ordeña (peso, número de horas en pastoreo y ordeña, ingesta diaria de alimentos, etc.) no es realizado rutinariamente por personal del DAG, por lo que se planteó el uso de la razón dióxido de carbono-metano como un estimador indirecto que pudiera ser utilizado en estimaciones de la emisión de metano en el proceso.

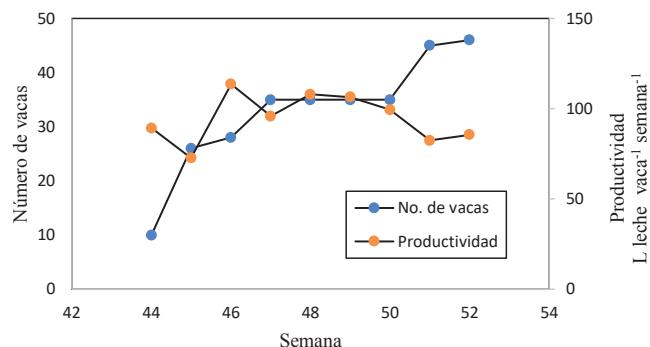


Figura 2. Número de vacas y su productividad semanal durante el periodo analizado.

Figure 2. Number of cows and their weekly productivity during the period analyzed.

En las instalaciones del área de monitoreo, en su parte norte fue instalada una torre micrometeorológica de 6 m de alto. Sobre ella fue colocado un sistema GHG-2 (marca LICOR), el cual consta de un espectroscopio de circuito abierto (LI-7700) para medir metano (CH_4) y un analizador de gases infrarrojo de circuito cerrado

(LI-7200) para medir bióxido de carbono (CO_2) y vapor de agua (H_2O), con una bomba LI-7200-101 para el analizador de gases con infrarrojo (IRGA), acompañados de un anemómetro sónico CSAT3; los primeros de la marca LICOR y el último de la marca CampbellSci. La Figura 3 muestra la disposición del sistema EC y el establo de ordeña de las mediciones, donde se aprecia que atrás del establo se encuentra vegetación verde que puede generar emisiones de CO_2 adicionales a la de las vacas. El sistema, en el rango de acimut de la dirección del viento, monitorea las emisiones de CO_2 y CH_4 del ganado solo de los corrales de ordeña. El área de pastoreo esta lejos del alcance del sistema y no esta incluida en las mediciones.

La Figura 4 muestra la dominancia de vientos en la Costa de Hermosillo (cercana a las instalaciones de medición) en 2016. De acuerdo con los patrones de la Figura 4, los instrumentos fueron colocados viendo hacia el sur (~180°) y el CSAT3 fue colocado al oeste a 140° de azimut, procurando el mínimo disturbio de los vientos para reducir la perdida de datos.



Figura 3. Arreglo y disposición espacial del sistema de covarianza de vórtices y localización de los corrales de ordeña con relación al sistema.

Figure 3. Array and spatial arrangement of the covariance system of vortices and location of the milking pens in relation to the system.

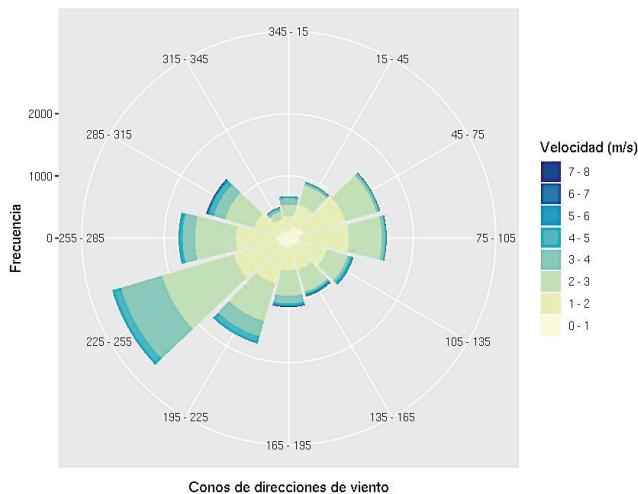


Figura 4. Dirección y velocidad de vientos en la Costa de Hermosillo en el año 2016.

Figure 4. Wind direction and speed on the coast of Hermosillo in 2016.

El sistema de alimentación eléctrica de los instrumentos se realizó usando paneles solares, con controladores de 20 A y baterías de ciclo profundo para almacenamiento, asegurando que cada una de ellas tuviera una capacidad superior a 100 Ah. Los módulos LI-7200-101, LI-7700, LI-7200, tienen un consumo de 2.5 Ah, 1.5 Ah y 1.5 Ah, respectivamente; consumiendo el sistema GHG-2 en promedio diariamente alrededor de 140 A. Para su funcionamiento el sistema fue separado en tres secciones: el LI-7700, LI-7200 y LI-7200-101, además del LI-7750-CSAT3; alimentándose cada uno de ellos con 260 W, 360 W, 360 W, respectivamente. Se colocaron en cada sección dos baterías de ciclo profundo.

Colecta y Procesamiento de Datos

Las variables (CH_4 , CO_2 y H_2O) fueron muestreadas a 10 Hz y almacenadas en una memoria USB de 16 Gb en el módulo LI-7550, creando archivos cada 30 min, con 18 000 registros cada uno. Los datos que fueron almacenados dentro del LI-7550 se colectaron periódicamente y fueron procesados usando software EddyPro versión 6.2 (Burba, 2013). Durante el procesamiento se tomaron en consideración los comentarios de Felber *et al.* (2015), para evitar eliminar los picos de CH_4 producido para los eructos abundantes del ganado (Figura 5).

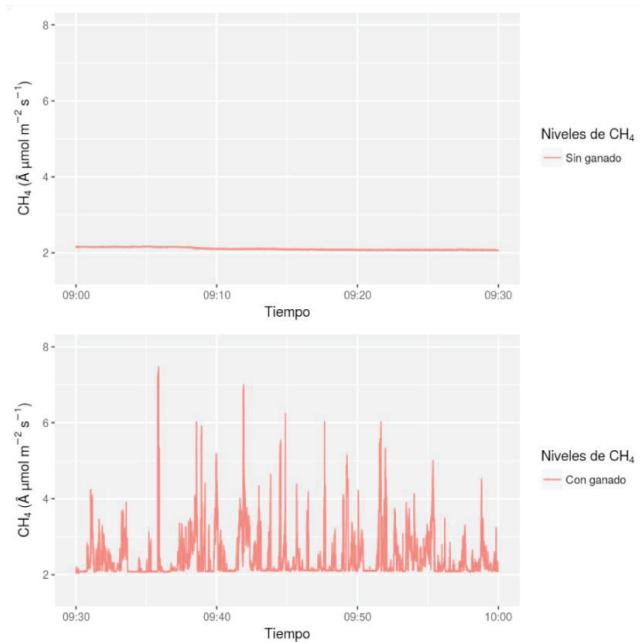


Figura 5. Ejemplo de picos de emisión de CH_4 por el ganado en el establo (mediciones en micromoles $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Figure 5. Example of CH_4 emission peaks by stabled cattle (measurements in micromoles $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mantenimiento y Operación del Sistema

LI-7700. El mantenimiento del instrumento se realizó de 2 a 3 veces por semana para mantener la calidad de la señal por arriba del 20% recomendado en el manual del fabricante y así asegurar una mejor calidad en las mediciones. Dada la gran cantidad de polvo emitido por el movimiento del ganado se fijó como meta arriba del 30%. La Figura 6 muestra el rápido cambio en la calidad de la señal por la presencia de material fino suspendido en el aire, a pesar de que el sistema cuenta con un sistema automático de limpieza del espejo inferior programable en periodicidad y duración.

LI-7200. El mantenimiento del instrumento se realizó cada 3 a 5 días, sobre todo en relación con el filtro de polvos para evitar su obstrucción y contaminación del IRGA (Infra Red Gas Analyzer). Este consistió en limpieza del filtro de 2 micrómetros, utilizando un baño ultrasónico (Bransonic modelo M 2800) a una frecuencia de 40 Hz y períodos de 7 a 10 min, colocando el filtro en el interior de un recipiente con Extran al 2%, enjuague con agua destilada y posteriormente se le

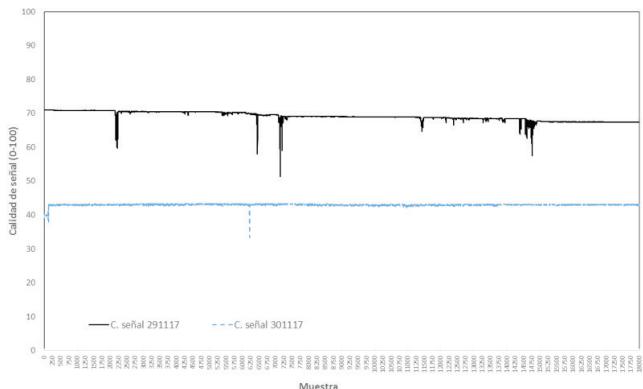


Figura 6. Calidad de la señal del LI7700 LICOR.
Figure 6. LI7700 LICOR signal quality.

aplicó aire a presión para limpieza y secado. La Figura 7 muestra el incremento en la potencia (%) del motor de la bomba en el LI-7200-101 para mantener el flujo de 15 litros min⁻¹. En ella se observa que generalmente existe un incremento del 10% diario del esfuerzo y esto ocasiona un incremento en el consumo de 2.5 a 3.5-3.7 Ah, lo cual dificulta la operación continua del sistema. La limpieza del filtro es recomendada cuanto la potencia se incrementa al 90%. Posterior a la limpieza, el esfuerzo de la bomba cae por debajo del 50% y el sonido de ésta se vuelve menos agudo.

Vientos (velocidad y dirección). La instrumentación en el sitio fue colocada siguiendo la distribución de dirección de los vientos (Figura 4). La Figura 8 muestra la distribución de los vientos durante el experimento de prueba en el sitio. En ella se observa como el

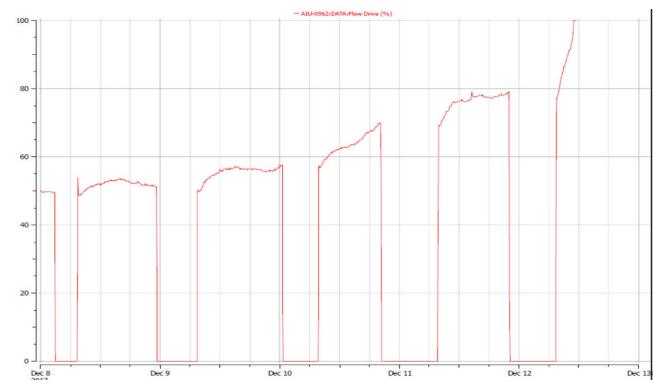


Figura 7. Potencia de la bomba (%) del LI7200-101 del GHG-2 marca LICOR.
Figure 7. Pump power (%) of the LI7200-101 of the GHG-2 LICOR brand.

comportamiento de los vientos está asociado al enfriamiento y calentamiento diario de la superficie, presentándose las velocidades mínimas y máximas por la noche y tarde, respectivamente. Además, se aprecia que los vientos útiles son los vespertinos y en la dirección del viento suroeste (acimut de 225° ± 45°), dado que durante el otoño se presentan con frecuencia vientos del norte, independientemente del fenómeno de brisa marina que domina el proceso de dirección de vientos de la región costera de Sonora.

Flujos de metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂). Los incrementos, a intervalos de 30 min, de CO₂ generalmente están asociados al incremento en CH₄, principalmente cuando los vientos provienen de

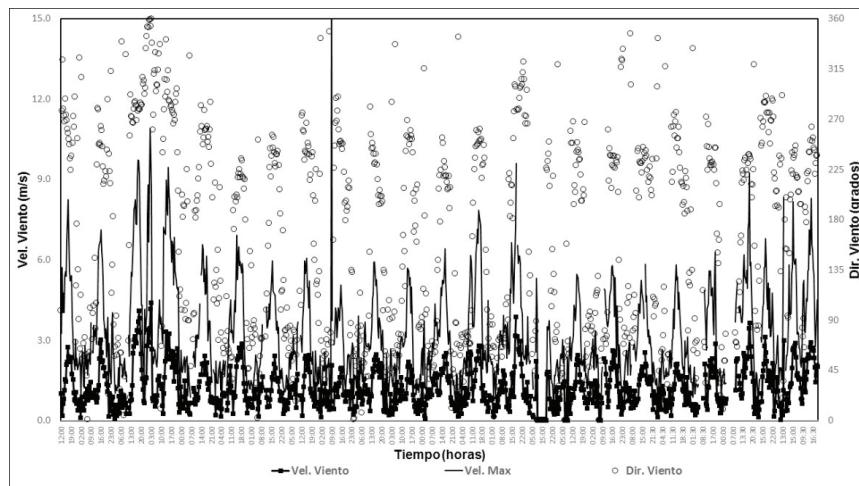


Figura 8. Comportamiento de los vientos durante el experimento en el año 2017.
Figure 8. Wind behavior during the 2017 experiment.

la orientación sur y suroeste, que corresponde al área donde se localiza el ganado y por lo general ocurre en la tarde y noche (Figura 9). Observaciones similares han sido realizadas por Sun *et al.* (2015), en la cuales los principales flujos proceden de la dirección de los vientos dominantes. También se observó que existen pocos valores de CO₂ negativos, que pueden indicar fijación de carbono por fotosíntesis, indicando que ambos flujos provienen de lugares cercanos al sitio de medición.

Relación de CO₂ y CH₄. Se observó una correspondencia entre emisiones de CO₂ y CH₄ con una pendiente de 0.05 (Figura 10) cercana al límite inferior del rango (0.06-0.10) definido por Madsen *et al.* (2010). Este valor bajo puede explicarse por las condiciones de ganado semiestabulado (alimento en otoño-invierno) y aportaciones de la vegetación (respiración) a los flujos de CO₂ y por flujos fuera del footprint del sistema de medición; aunque en el periodo del experimento la digestibilidad del pasto ingerido por los animales fue baja, lo cual fue la principal razón del valor bajo de la razón El coeficiente de correlación de Pearson (*r*) fue de 0.87, inferior al observado por Sun *et al.* (2015) de 0.93 en corrales para engorda de ganado vacuno, usando la técnica de covarianza de vórtices sobre una superficie extensa. Con relación a las mediciones, una importante

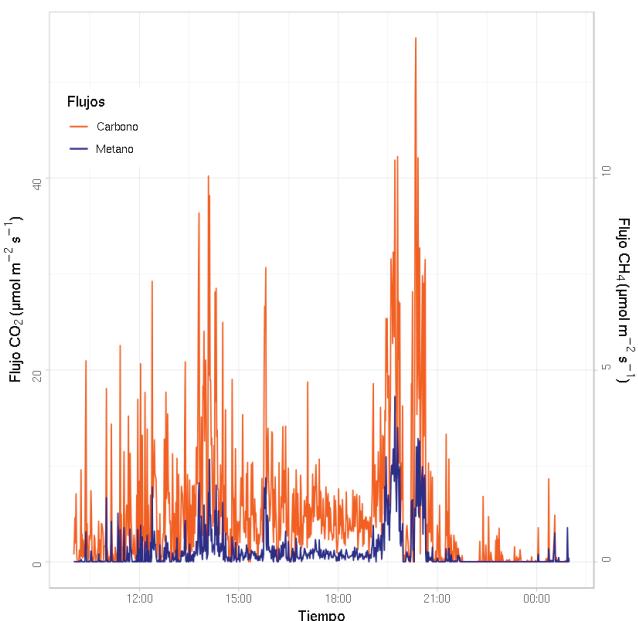


Figura 9. Flujos de CO₂ y CH₄ en el corral con ganado lechero.
Figure 9. CO₂ and CH₄ flows in the dairy cattle corral.

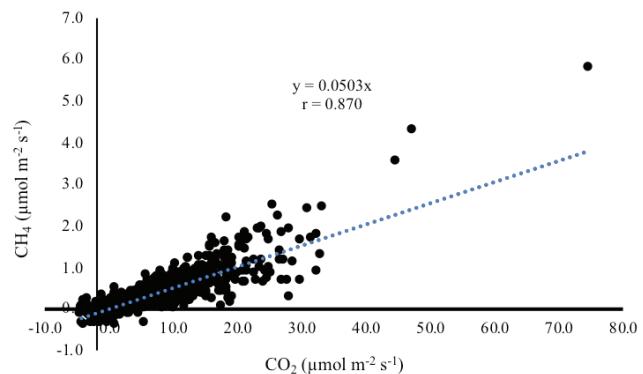


Figura 10. Razón de flujos de CO₂ y CH₄ en el corral con ganado lechero.

Figure 10. Ratio of CO₂ and CH₄ flows in the dairy cattle corral.

variación (0.82 a 6.2 μmoles/m²/s, media = 2.36) en los valores CH₄ fue reportado por Prajapati y Santos (2017), relativamente similar a este experimento (~0.0 a 5.87 μmoles/m²/s, media = 0.52). Sin embargo, la mayor concentración de datos se ubica entre 2 μmoles/m²/s y 30 μmoles/m²/s de CH₄ y CO₂, respectivamente. Los altos picos de ambos GEI ocurrieron durante los eventos de concentración del ganado. También se observó una dispersión de los datos, debido a cambios en la dirección de los vientos, movimiento y ausencia de ganado, similar a lo reportado previamente (Baum *et al.*, 2008; Prajapati y Santos, 2017).

Las mediciones de la razón CO₂ y CH₄, independientemente del número de animales monitoreado, permite utilizar estimaciones de la producción de CO₂ a partir de balances en la producción de calor de acuerdo con la alimentación y características de los animales (Madsen *et al.*, 2010), para estimar las emisiones de CH₄ en forma indirecta, cuando no se cuenta con mediciones de este gas.

CONCLUSIONES

- El GHG-2 es un sistema basado en la técnica de covarianza de vórtices que permite evaluar dos de los principales gases efecto invernadero (CO₂ y CH₄), lo que requiere una supervisión y mantenimiento frecuente. En lugares con una importante presencia de material particulado en la atmósfera, el filtro del LI-7200 (CO₂ y H₂O) se obstruye frecuentemente e incrementa el consumo de energía en 1 A/h, por lo que

requiere limpieza o su remplazo. Lo mismo ocurre con el LI-7700 (CH_4), el material particulado se deposita en el espejo inferior y obliga limpieza automática o manual frecuentemente. El GHG-2 tiene un consumo importante de energía ~5 Ah, lo cual obliga a tener una batería de paneles solares y acumuladores para asegurar su funcionamiento continuo o una fuente de corriente alterna y convertidores de AC a DC. Por otro lado, el sistema permite evaluar los cambios en CH_4 , CO_2 y H_2O de manera adecuada, al poder observar los flujos de manera continua y contribuir a determinarlos de manera estacional y anual, para así contribuir al monitoreo de gases efectos invernadero en ganado bajo sistemas estabulados/semitabulados o pastoreo libre. Una de las limitaciones existentes en la técnica aplicada a esta actividad es que el ganado es una fuente móvil y la cantidad y continuidad de los flujos depende de la posición de los animales y los vientos dominantes. Esta técnica, en combinación con la SF_6 , permitiría reducir o eliminar esa limitación asociada a la movilidad de los animales.

- Con relación al problema de material particulado (polvo) se recomienda la adquisición de filtros de partículas de 2 micrómetros en el tubo de entrada para reducir la frecuencia de limpiado de la celda óptica del sistema LI-7200 y similares.
- La razón $\text{CO}_2:\text{CH}_4$ en el experimento mostró una alta correlación, por lo que es posible utilizarla en la estimación indirecta de metano a partir de CO_2 .
- En la estimación de los flujos de gases en sistemas estabulados y semiestabulados es altamente recomendable el utilizar un modelo de footprint para evaluar las fuentes móviles y así poder realizar estimaciones que consideren las limitaciones de este tipo de instalaciones al usar la técnica de covarianza de vórtices.

LITERATURA CITADA

- Aubry, A. and T. Yan. 2015. Meta-analysis of calorimeter data to establish relationships between methane and carbon dioxide emissions or oxygen consumption for dairy cattle. *Animal Nutr.* 1: 128-134. doi: 10.1016/j.aninu.2015.08.015.
- Baldocchi, D. D., B. B. Hicks, and T. P. Meyers. 1988. Measuring biosphere-atmosphere exchanges of biologically related gases with micrometeorological methods. *Ecology* 69: 1331-1340.
- Baldocchi, D. D., M. Detto, O. Sonnentag, J. Verfaillie , Y. A. Teh, W. Silver, and N. M. Kelly. 2012. The challenges of measuring methane fluxes and concentration over peatland pasture. *Agric. For. Meteorol.* 153: 177-187. doi: 10.1016/j.agrformet.2011.04.013.
- Baum, K. A., J. M. Ham, N. A. Brunsell, and P. I. Coyne. 2008. Surface boundary layer of cattle feedlots: Implications for air emissions measurement. *Agric. For. Meteorol.* 148: 1882-1893.
- Benaouda, M., M. González, L. T. Molina y O. A. Castelán. 2017. Estado de la investigación sobre emisiones de metano entérico y estrategias de mitigación en América Latina. *Rev. Mex. Cienc. Agric.* 8: 965-974.
- Bjerg, B., G. Zhang, J. Madsen, and H. B. Rom. 2011. Methane emission from naturally ventilated livestock buildings can be determined from gas concentration measurements. *Environ. Monit. Assess.* 84: 5989-6000. doi: 10.1007/s10661-011-2397-8.
- Boadi, D. A., K. M. Wittenberg, and A. D. Kennedy. 2002. Validation of the sulphur hexafluoride (SF_6) tracer gas technique for measurement of methane and carbon dioxide production by cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 82: 125-131.
- Bonifacio, H. F., R. G. Maghirang, B. W. Auvermann, E. B. Razote, J. P. Murphy, and J. P. Harner. 2012. Particulate matter emissions rates from beef cattle feedlots in Kansas – reverse dispersion modeling. *J. Air Waste Manage. Assoc.* 62: 350-361.
- Brower, E. 1965. Report of sub-committee on constants and factors. pp: 441-443. In: K. L. Blaxter (ed.). *Proceedings of the 3rd Symposium on Energy Metabolism*. Academic Press. London.
- Burba, G. 2013. Eddy covariance method for scientific, industrial, agricultural, and regulatory applications: A field book on measuring ecosystem gas exchange and areal emission rates. LI-COR Biosciences. Lincoln, NE, USA. ISBN 978-0-615-76827-4.
- Castelán-Ortega, O. A., J. C. Ku-Vera, and J. G. Estrada-Flores. 2014. Modeling methane emissions and methane inventories for cattle production systems in Mexico. *Atmósfera* 27: 185-191.
- Chacón Anaya, D., M. E. Giner, M. Vázquez Valles, J. A. Maldonado, S. M. Roe, R. Anderson. 2010. Emisiones de gases efecto invernadero en Sonora y proyecciones de casos de referencia 1990-2020. Comisión de Cooperación Ecológica Fronteriza en colaboración con el Gobierno del Estado de Sonora. Ciudad Juárez, Chihuahua, México.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2006. Livestock's long shadow. Environmental issue and options. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. ISBN 978-92-5-105571-7.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2017. Future of food and agriculture – Trends and Challenges. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. ISBN 978-92-5-109551-5.
- Felber, R., A. Münger, A. Neftel, and C. Ammann. 2015. Eddy covariance methane flux measurements over a grazed pasture: effects of cows as moving point sources. *Biogeosciences* 12: 3925-3940.
- Goodland, R. and J. Anhang. 2009. Livestock and Climate Change. What if the key actors in climate change were pigs, chickens and cows? pp. 10-19. In: *World Watch Magazine*. Worldwatch Institute. Washington, DC, USA.
- Goopy, J. P., C. Chang, and N. Tomkins. 2016. A comparison of methodologies for measuring methane emissions from ruminants. pp. 97-117. In: T. Rosenstock, M. Rufino, K. Butterbach-Bahl, L. Wollenberg, and M. Richards (eds.). *Methods for measuring greenhouse gas balances and evaluating mitigation options in smallholder agriculture*. Springer. Berlin, Heidelberg, Germany.

- Grainger, C., T. Clarke, S. M. McGinn, M. J. Auldist, K. A. Beauchemin, M. C. Hanna, G. C. Waghorn, H. Clark, and R. J. Eckard. 2007. Methane emissions from dairy cows measured using the sulfur hexafluoride (SF₆) tracer and chamber techniques. *J. Dairy Sci.* 90: 2755-2760.
- Hamilton, S. W., E. J. DePeters, J. A. McGarvey, J. Lathrop, and F. M. Mitloehner. 2010. Greenhouse gas, animal performance, and bacterial population structure responses to dietary monensin fed to dairy cows. *J. Environ. Qual.* 39: 106-114.
- Harper, L. A., O. T. Denmead, and T. K. Flesch. 2011. Micrometeorological techniques for measurement on enteric greenhouse gas emissions. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166-167: 227-239.
- Herrero, M., P. Gerber, T. Vellinga, T. Garnett, A. Leip, C. Opio, H. J. Westhoek, P. K. Thornton, J. Olesen, N. Hutchings, H. Montgomery, J. F. Soussana, H. Steinfeld, and T. A. McAllister. 2011. Livestock and greenhouse gas emissions: the importance of getting the numbers right. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166-167: 779-782.
- Hindrichsen, I. K., H. R. Wettstein, A. Machmüller, B. Jorg, and M. Kreruzer. 2005. Effect of the carbohydrate composition of feed concentrate son methane emission from dairy cows and their slurry. *Environ. Monit. Assess.* 107: 329-350.
- Hiranuma, N., S. D. Brooks, J. Gramann, and B. W. Auvermann. 2011. High concentration of coarse particles emitted from cattle feeding operation. *Atmos. Chem. Phys.* 11: 8809-8823. doi: 10.5194/acp-11-8809-2011
- Hoernicke, H., W. F. Williams, D. R. Waldo, and W. P. Flatt. 1965. Composition and absorption of rumen gases and their importance for the accuracy of respiration trials with tracheostomized ruminant. pp. 165-178. In: K. L. Blaxter (ed.). *Energy Metabolism*. Academic Press. London.
- INE-SEMARNAT (Instituto Nacional de Ecología y Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2006. Tercera Comunicación Nacional ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático. INE-SEMARNAT. México, D. F.
- INE-SEMARNAT (Instituto Nacional de Ecología y Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2009. Cuarta Comunicación Nacional ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático. INE-SEMARNAT. México, D. F.
- INE-SEMARNAT (Instituto Nacional de Ecología y Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2012. Quinta Comunicación Nacional ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático. INE-SEMARNAT. México, D. F.
- INECC-SEMARNAT (Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático y Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2015. Primer Informe Bienal de Actualización ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático. INECC/Semarnat, México.
- IPCC (The Intergovernmental Panel on Climate Change). 2006. Agriculture, forestry and other land use IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. H. S. Eggleston, L. Buendia, K. Miwa, T. Ngara, and K. Tanabe (eds.). Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme. Institute for Global Environmental Strategies. Hayama, Japan.
- IPCC (The Intergovernmental Panel on Climate Change). 2013. Climate Change 2013: The physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Stocker, T.F., D. Qin, G. K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P. M. Midgley (eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. ISBN: 978-1-107-66182-0 paperback.
- Johnson, K. A. and D. E. Johnson. 1995. Methane emission from cattle. *J. Anim. Sci.* 13: 2483-2492.
- Johnson, K., M. Huyler, H. Westberg, B. Lamb, and P. Zimmerman. 1994. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF₆ tracer technique. *Environ. Sci. Technol.* 2: 359-362.
- Kinsman, R., F. D. Sauer, H. A. Jackson, and M. S. Wolynetz. 1995. Methane and carbon dioxide emissions from dairy cows in full lactation monitored over a six-month period. *J. Dairy Sci.* 78: 2760-2766.
- Kirchgessner, M., W. Windish, H. L. Müller, and M. Kreuzer. 1991. Release of stocking methane and of carbon dioxide by dairy cattle. *Agribiol. Res.* 44: 91-102.
- Ku-Vera, J. C., S. S. Valencia-Salazar, A. T. Piñeiro-Vázquez, I. C. Molina-Botero, J. Arroyave-Jaramillo, M. D. Montoya-Flores, F. J. Lazos-Balbuena, J. R. Canul-Solís, J. I. Arceo-Castillo, L. Ramírez-Cancino, C. S. Escobar-Restrepo, J. A. Alayón-Gamboa, G. Jiménez-Ferrer, L. M. Zavala-Escalante, O. A. Castelán-Ortega, P. Quintana-Owen, A. J. Ayala-Burgos, C. F. Aguilar-Pérez, and F. J. Solorio-Sánchez. 2018. Determination of methane yield in cattle feed tropical grasses as measured I open-circuit respiration chambers. *Agric. For. Meteorol.* 258: 3-7. doi: 10.1016/j.agrformet.2018.01.008.
- Lassen, J., P. Lovendahl, and J. Madsen. 2012. Accuracy of noninvasive breath methane measurements using Fourier transform infrared methods on individual cows. *J. Dairy Sci.* 95: 890-898.
- Lee, M. A., A. Todd, M.A. Sutton, M. G. G. Chagunda, D. J. Roberts, and R. M. Rees. 2017. A time-series of methane and carbon dioxide production from dairy cows during a period of dietary transition. *Cogent Environ. Sci.* 3:1385693
- Leytem, A. B., R. S. Dungan, D. L. Bjorneberg, and A. C. Koehn. 2010. Emissions of ammonia, methane, carbon dioxide, and nitrous oxide from dairy cattle housing and manure management systems. *J. Environ. Qual.* 40: 1383-1394. doi: 10.2134/jeq2009.0515.
- Madsen, J., B. S. Bjerg, T. Hvelplund, M. R. Weisbjerg, and P. Lund. 2010. Methane and carbon dioxide ratio in excreted air for quantification of the methane production from ruminants. *Livestock Sci.* 129: 223-227.
- McGinn, S. M. 2013. Developments in micrometeorological methods for methane measurements. *Animal* 7: 386-393.
- McGinn, S. M., T. K. Flesch, L. A. Harper, and K. A. Beauchemin. 2006. An approach for measuring methane emissions from whole farms. *J. Environ. Qual.* 35: 14-20.
- McLean, J. A. and G. Tobin. 1988. *Animal and human calorimetry*. Cambridge University Press. Cambridge. Online ISBN: 9780511663161.
- Ngwabie, N. M., K. H. Jeppsson, S. Nimmermark, C. Swensson, and G. Gustafsson. 2009. Multi-location measurements of

- greenhouse gases and emission rates of methane and ammonia from a naturally-ventilated barn of dairy cows. *Biosyst. Engin.* 103: 68-77.
- Pedersen, S., V. Blanes-Vidal, H. Joergensen, A. Chwalibog, A. Haeussermann, M. J. W. Heetkamp, and A. J. Aarnink. 2008. Carbon dioxide production in animal houses: A literature review. *Agricultural Engineering International: CIGR Ejournal. Manuscript BC08008* 10: 1-19.
- Peel, D. S., R. J. Johnson, and K. H. Mathews. 2010. Cow-calf beef production in Mexico. LDP-M-196-01. U.S. Department of Agriculture, Economic Research Service. USA.
- Pelletier, N. and P. Tyedmers. 2010. Forecasting potential global environmental costs of livestock production 2000-2050. *PNAS* 107: 18371-18374. doi: 10.1073/pnas.1004659107.
- Pinares-Patiño, C. S. and H. C. Clark. 2008. Reliability of the sulfur hexafluoride tracer technique for methane emission measurement from individual animals: An overview. *Aust. J. Exp. Agric.* 48: 223-229.
- Pinares-Patiño, C. S., P. D'Hour, J. P. Jouany, and C. Martin. 2007. Effects of stocking rate on methane and carbon dioxide emissions from grazing cattle. *Agric. Ecosyst. Environ.* 121: 30-46.
- Prajapati, P. and E. A. Santos. 2017. Measurements of methane emissions from a beef cattle feedlot using the eddy covariance technique. *J. Agric. For. Meteorol.* 232: 349-358.
- Rendón-Huerta, J. A., J. M. Pinos-Rodriguez, J. C. García-López, L. G. Yáñez, and E. Kebreab. 2014. Trends in greenhouse gas emissions from dairy cattle in Mexico between 1970 and 2010. *Anim. Prod. Sci.* 54: 292-298.
- Robinson, T. P., P. K. Thornton, G. Franceschini, R. L. Kruska, F. Chiozza, A. Notenbaert, G. Cecchi, M. Herrero, M. Epprecht, S. Fritz, L. You, G. Conchedda, and L. See. 2011. Global livestock production systems. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and International Livestock Research Institute. Rome, Italy. ISBN 978-92-5-107033-8.
- Saynes, V., J. D. Etchevers, F. Paz y L.O. Alvarado. 2016. Emisiones de gases de efecto invernadero en sistemas agrícolas de México. *Terra Latinoamericana* 34: 83-96.
- Schmid, H. P. 2002. Footprint modeling for vegetation atmosphere exchange studies: A review and perspective. *Agric. For. Meteorol.* 113: 159-183.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2017. Estadística de la producción agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA. Ciudad de México, México.
- Storm, I. M. L. D., A. L. F. Hellwing, N. I. Nielsen, and J. Madsen. 2012. Methods for measuring and estimating methane emission from ruminants. *Animals* 2: 160-183.
- Sun, K., L. Tao, D. J. Miller, M. A. Zondlo, K. B. Shonkwiler, C. Nash, and J. M. Ham. 2015. Open-path eddy covariance measurements of ammonia fluxes from a beef cattle feedlot. *Agri. For. Meteorol.* 213: 193-202.
- Tomkins, N. W., S. M. McGinn, D. A. Turner, and E. Charmley. 2011. Comparison of open-circuit respiration chambers with a micrometeorological method for determining methane emissions from beef cattle grazing a tropical pasture. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166-167: 240-247.
- Verma, S. B. 1990. Micrometeorological methods for measuring surface fluxes of mass and energy. *Remote Sens. Rev.* 5: 99-115. doi: 0.1080/02757259009532124
- Vermorel, M. 1995. Productions gazeuses et thermiques résultant des fermentations digestives. pp. 49-60. In: R. Jarrife, Y. Ruckebusch, C. Demarqilly, M. H. Farce et M. Journet (eds.). Nutrition des ruminants domestiques, ingestion et digestion. INRA Editions. Paris, France.
- Wolf, J., G. R. Asrar, and T. O. West. 2017. Revised methane emission factors and spatially distributed annual carbon fluxes for global livestock. *Carbon Balance Manage.* 12:16. doi: 10.1186/s1302-017-0084-y.