

Evaluación de diversas estrategias nutricionales para mitigar las emisiones de metano en ganadería de leche especializada.

Trabajo de grado en Nutrición de Rumiantes

Presentado por:

CATALINA RESTREPO ARIAS

Como requisito para optar para el título de:

Magister en Ciencias Animales

Tutor

Ricardo Rosero Noguera, Zoot., MSc., PhD.

Facultad de Ciencias Agrarias

Universidad de Antioquia

2016

Agradecimientos

La presente investigación fue posible gracias al apoyo de la empresa Solla S.A, en especial al doctor Luis Miguel Gómez y a su grupo de colaboradores del área de investigación y desarrollo, al equipo de control calidad en especial a Ivan Montilla, al doctor Pablo Aguirre, a mis compañeros del departamento de formulación en especial Alexandra Amorocho, Jorge Alberto Patiño, Juan Jose Jaramillo y al señor Fernando Candamil; al grupo de investigación GRICA de la universidad de Antioquia liderado por mi tutor, el doctor Ricardo Rosero Noguera y su esposa la doctora Sandra Lucia Posada Ochoa, al Departamento de Ciencia, Tecnología e Innovación COLCIENCIAS por el apoyo para el desarrollo de esta investigación a través del proyecto “Evaluación *in vitro* e *in vivo* de diversas estrategias nutricionales para mitigar las emisiones de metano y su impacto productivo, reproductivo y económico en ganadería de leche especializada en el norte de Antioquia” (Código 1115+569-33874).

A todos los docentes y compañeros de la universidad de Antioquia y universidad Nacional sede Medellín, que me ayudaron en múltiples aspectos.

A Dios, por bendecirme día a día, a mis dobles padres por apoyarme siempre, a todos los miembros de mi familia por ser tan especiales, a mis compañeros de maestría por ayudarme siempre, en especial a mi amiga Diana Ortiz quien me apoyó y ayudó en muchos aspectos académicos y personales, y a todos los amigos que de una u otra forma me apoyaron.

A Nancy Rodríguez por su valiosa e incondicional amistad, a Oswaldo Molano por brindarme siempre su amor desinteresado.

Dedicatoria

A mis padres Magnolia Arias, Rosalba Arias, Humberto Restrepo y Ocaris Lopera.

Tabla de contenido

Agradecimientos	2
Dedicatoria.....	3
Tabla de contenido.....	4
Lista de Tablas.....	7
Lista de figuras.....	9
Lista de Abreviaturas	9
Resumen	12
Abstract	13
Introducción General.....	14
Literatura citada.....	17
Objetivos	21
Objetivo General.....	21
Objetivos Especificos	21
CAPITULO I.....	22
Marco Teórico	22
Manejo de factores asociados a la alimentación sobre la emisión entérica de metano en rumiantes	22
Resumen.....	22
Summary	23
Introducción	24
Calentamiento global: el metano como parte de la problemática ambiental	25
Proceso químico de producción del metano en rumiantes	26
Proceso de hidrólisis de carbohidratos en forrajes y su relación con el metano.....	27
Pastoreo en lechería especializada en Colombia.....	31
Especies forrajeras C3 y C4	32
Origen del pasto kikuyo y del pasto Ryegrass	35
Influencia de la edad sobre calidad composicional en las pasturas y parámetros ruminales.....	35
Proceso de hidrólisis de carbohidratos en materias primas usadas en la suplementación energética y su relación con el metano	36
Conclusión.....	40
Literatura citada.....	40

CAPITULO II	57
Efecto de la edad de corte de los pastos kikuyo (<i>Cenchrus clandestinum</i>) y ryegrass (<i>Lolium perenne</i> L.) sobre la digestibilidad, perfil de fermentación y producción de metano <i>in vitro</i>	57
Resumen	57
Summary	58
Introducción	59
Materiales y Métodos	61
<i>Sustratos</i>	61
<i>Técnica in vitro de producción de gases</i>	62
<i>Análisis Estadístico</i>	65
Resultados y Discusión	65
Conclusión	74
Agradecimientos	74
Literatura Citada	74
CAPITULO III	80
Efecto de la sustitución energética del maíz (<i>Zea mays</i>) en dietas para rumiantes sobre la producción de metano <i>in vitro</i> y perfil de fermentación..	80
Resumen	80
Summary	81
Introducción	82
Materiales y métodos	84
<i>Sustratos</i>	84
Técnica <i>in vitro</i> de producción de gases	87
<i>Preparación del medio de cultivo</i>	87
<i>Preparación del inóculo e inoculación</i>	87
<i>Preparación de los frascos de incubación</i>	87
<i>Producción de gas, ácidos grasos volátiles y metano</i>	88
Análisis Estadístico	89
Resultados	90
Discusión	93
Conclusiones	97
Agradecimientos	97
Literatura citada	97

CAPITULO IV	105
Ecuaciones para predecir metano en ganado lechero: un meta-análisis.	105
Resumen	105
Summary	106
Introducción	107
Materiales y métodos	108
Construcción de la base de datos	108
Selección de estudios	109
Diseño estadístico	110
Resultados	113
Discusión	119
Conclusión	122
Agradecimientos	122
Literatura citada	123
Conclusiones Generales	130
Recomendaciones	130

Lista de Tablas

CAPÍTULO II.

Efecto de la edad de corte de los pastos kikuyo (*Cenchrus clandestinum*) y ryegrass (*Lolium perenne* L.) sobre la digestibilidad, perfil de fermentación y producción de metano *in vitro*.

Tabla 1. Composición química del pasto Kikuyo y Ryegrass en diferentes edades de corte.

Tabla 2. Efecto de la edad de corte y la especie sobre la degradación *in vitro* de la materia seca.

Tabla 3. Efecto de la edad de corte y la especie forrajera sobre la producción de metano *in vitro* (ml/g de MS degradada).

Tabla 4. Pérdida de energía (cal) en forma de metano a partir de la energía bruta incubada.

Tabla 5. Efecto de la edad de corte y la especie forrajera sobre la concentración de ácidos grasos volátiles (mmol/l).

CAPÍTULO III.

Efecto de la sustitución energética del maíz (*Zea mays*) en dietas para rumiantes sobre la producción de metano *in vitro* y perfil de fermentación.

Tabla 1. Ingredientes y composición química de los suplementos comerciales y del pasto Kikuyo.

Tabla 2. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre la degradación de la materia seca *in vitro* (%)

Tabla 3. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre el volumen acumulado de gases *in vitro* (ml/g de materia seca degradada)

Tabla 4. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre la producción de metano *in vitro* (ml/g de materia seca degradada)

Tabla 5. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre las pérdidas de energía bruta (Cal) por producción de metano *in vitro*

Tabla 6. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre la producción de ácidos grasos volátiles (mmol/L) *in vitro*

CAPITULO IV.

Ecuaciones para predecir metano con base en fracciones de la dieta en ganado lechero: un meta-análisis.

Tabla 1. Descripción estadística de las características de la dieta y de parámetros animales en el conjunto de datos utilizados para predecir la producción de CH₄.

Tabla 2. Descripción estadística de los datos utilizados para predecir la producción de CH₄ (transformados:t).

Tabla 3. Modelos propuestos para predecir la producción de CH₄.

Lista de figuras

CAPITULO IV.

Figura 1. Relación entre el valor predicho y observado (CH_4 g/día), ecuación A.

Figura 2. Relación entre el valor predicho y observado (CH_4 g/día), ecuación B.

Lista de Abreviaturas

%/%	Relación porcentaje/porcentaje
°C	Grados centígrados
μm	Micrómetro
A:P	Relación Acetato/propionato
ace	Acético
AGVs	Ácidos grasos volátiles
AIC	Criterios de información Akaike
atm	Atmósferas
ATP	Adenosina trifosfato
BIC	Criterios de información Bayesiano
but	Butirato
Ca	Calcio
CaCl_2	Cloruro de Calcio
cal	Calorías
cal/g	Calorías/gramo
CFSDN	Carbohidratos fibrosos solubles en detergente neutro
CH_4	Metano
cm	Centímetros
CMEP	Cuadrado medio del error de predicción - en inglés (MSPE)
CMS	Consumo de materia seca
CNE	Carbohidratos no estructurales
CNF	Carbohidratos no fibrosos
CO_2	Dióxido de carbono
CS	Componente simétrico
CZ	Cenizas
d	Día
DE	Desviación estándar
dig	Digestible
EB	Energía bruta

ED	Energía digestible
EE	Extracto etéreo
EM	Energía metabolizable
ENL	Energía neta de lactancia
exp	Exponencial
EPA	Agencia de Protección Ambiental (EE.UU.)
F	Forraje
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
F:C	Relación forraje: concentrado (FC)
FDA	Fibra en detergente ácido
FDN	Fibra en detergente neutra
FDNd	Fibra en detergente neutra digestible
FMZ	Forraje, Maíz (grano)
FPC	Forraje, Pulpa cítrica deshidratada
FSG	Forraje, Sorgo (grano)
FY	Forraje, Yuca (raíz)
g	Gramo
GEI	Gases efecto invernadero
H ₂	Hidrógeno
H ₂ O	Agua
Hg	Mercurio
IPCC	Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático
°K	Grados kelvin
Kcal	Kilocaloría
KCl	Cloruro de potasio
Kg	Kilogramos
KK30	Kikuyo de 30 días de corte
KK37	Kikuyo de 37 días de corte
KK44	Kikuyo de 44 días de corte
KKRG30	Mezcla 1:1 Kikuyo: Ryegrass de 30 días de corte
KKRG37	Mezcla 1:1 Kikuyo: Ryegrass de 37 días de corte
KKRG44	Mezcla 1:1 Kikuyo: Ryegrass de 44 días de corte
L	Litros
Log	Logaritmo natural
Max	Máximo
Mcal/kg	Megacaloría/kg
mg	Miligramos
MgSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de Magnesio heptahidratado
Mín	Mínimo
MJ/d	Megajoule/día
ml	Mililitros
mm	Milímetros
mmol/L	Milimol/litro

MO	Materia orgánica
MS	Materia seca
msnm	Metros Sobre el nivel de mar
MST	Materia seca total
MZ	Maíz
N	Nitrógeno
N ₂ O	Óxido nitroso
NA	No aplica
Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	Disodium de fosfato heptahidratado
NaCl	Cloruro de sodio
NaHCO ₃	Bicarbonato de sodio
NH ₃	Amoniaco
NAD	Nicotinamida adenina dinucleótido (forma oxidada)
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido (forma reducida)
nM	Milimolar
nm	Nanómetro
NNP	Nitrógeno no protéico
NRC	National Research Council
NTC	Norma técnica Colombiana
P	Fósforo
PB	Proteína bruta
PC	Proteína cruda
PCD	Pulpa cítrica de naranja deshidratada
PMR	Proteína microbial ruminal
PNDR	Proteína no degradable en rumen
ppm	Partes por millón
prop	Propiónico
PSI	Libra por pulgada cuadrada
R ²	Coeficiente de determinación
RG30	Ryegrass de 30 días de corte
RG37	Ryegrass de 37 días de corte
RG44	Ryegrass de 44 días de corte
rpm	Revoluciones por minuto
SF ₆	Hexafluoruro de azufre
SG	Sorgo
t	Variable transformada
TC	Taninos condensados
TDN	Total de nutrientes digestibles
TIVPG	Técnica <i>in vitro</i> de producción de gases
TMR	Raciones totalmente mezcladas
VC	Componente de varianza
YC	Yuca

λ	letra lambda
μl	Microlitro

Resumen

Capítulo I. Se ejecutó una revisión de literatura sobre la problemática ambiental y productiva que tiene el metano (CH₄) de acuerdo a diferentes fuentes de alimentación (forrajes y materias primas para los suplementos alimenticios) en las dietas para ganado de leche.

Capítulo II. Se evaluó el efecto de la edad de corte 30, 37 y 44 días, del pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinum*), Ryegrass (*Lolium perenne L.*) y su mezcla en proporciones 50:50 respectivamente sobre la digestibilidad, producción de CH₄ y el perfil de fermentación *in vitro*, en tres horarios de medición 12, 24 y 48 horas. En este trabajo, la edad de pastoreo más apropiada para el pasto Ryegrass fue a los 30 días y para el pasto Kikuyo estuvo entre los 37 y 44 días, debido a que en las edades antes descritas se obtuvieron los mayores resultados en cuanto a degradación de MS (78.5, 67.9 y 68.2%) y producción total de AGVs (326, 278 y 277 mmol/L). A pesar de que también se obtuvo una mayor pérdida energética en forma de CH₄ (192.7, 180.4 y 206.6 cal), esta sería compensada por una mayor disponibilidad de energía para los microorganismos y para el animal derivada de la mayor cantidad de materia orgánica fermentable.

Capítulo III. Se determinaron la cinética de producción de gas total y CH₄, la degradación de la materia seca y el perfil de fermentación (AGVs) *in vitro*, en una mezcla en proporción 60:40 de pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinum*) de 37 días de edad de corte, con diferentes fuentes de carbohidratos no estructurales. Se reemplazó en cada suplemento el 50% del total de nutrientes digestibles (TDN) aportados por el maíz grano (*Zea mays*) con otras fuentes energéticas como: sorgo grano (*Sorghum vulgare*), pulpa

cítrica de naranja y raíz de yuca (*Manihot esculenta*), en tres horarios de medición 6, 12 y 24 horas. La mayor degradabilidad de la materia seca fue similar en las dietas formuladas con forraje y con granos de cereales como maíz grano, sorgo grano y raíz de yuca (65.5, 62.7 y 62.6%); la dieta con pulpa cítrica presentó la menor degradación (60.6%). Se observó una reducción del 23% en las emisiones de CH₄ en el tratamiento que incluyó como principal fuente de carbohidratos al maíz (33.3 ml CH₄/gMSdegradada).

Capítulo IV. Meta-análisis: desde el año 2005 a enero de 2015, se construyó una base de datos a partir de revisión bibliográfica de estudios en vacas lactantes, en los cuales a partir de variables como la dieta y los datos del animal, se construyeron varias ecuaciones para la predicción de la producción de CH₄. La variable con mayor influencia fue el consumo de materia seca.

Abstract

Chapter I. A review of literature about environmental and production problems that have methane according to different feed sources forages and raw materials for feed supplements) in diets for dairy cattle.

Chapter II. The effect of cutting age 30, 37 and 44 days, the Kikuyu grass (*Cenchrus clandestinum*), Ryegrass (*Lolium perenne L.*) and their mixtures in proportions 50:50 respectively on: digestibility, methane production and fermentation profile *in vitro* was evaluated in three measurement times: 12, 24 and 48 hours. In this paper, the ideal age to consume the Ryegrass was 37 days and for Kikuyu grass were ages between 37 and 44 days. With this ages, the largest degradations on dry matter (78.5, 67.9 y 68.2%) and on total production of volatile fatty acids (VFA) (326, 278 y 277 mmol/L) were obtained. Despite of a greater energy loss was also obtained in form of methane (192.7, 180.4 y 206.6 cal), this would be balanced by a greater availability of energy for microorganisms and animals due to the largest amount of fermentable organic matter.

Chapter III. The kinetics of total gas and CH₄ production, the degradation of dry matter and the fermentation profile (VFA) *in vitro* were determined in a 60:40 mixture of Kikuyu grass (*Cenchrus clandestinum*) 37 days old cutting age with different sources of non-structural carbohydrates. In each supplement the 50% of total digestible nutrient (TDN) provided in the supplement to maize grain (*Zea mays*) were replaced by other energy sources such as sorghum grain (*Sorghum vulgare*), orange citrus pulp and cassava root (*Manihot esculenta*) in three measuring times 6, 12 and 24 hours. The biggest degradability of dry matter was similar in diets formulated with forage and cereal grains like corn grain, sorghum grain and cassava root (65.5, 62.7 y 62.6%); the diet with citrus pulp had the lowest degradation (60.6%). A reduction of 23% in emissions of CH₄ was observed in treatment that included corn as the main source of carbohydrates (33.3 ml CH₄/gDM degraded)

Chapter IV. Meta-analysis: from 2005 to January 2015, it was built a database from literature review of studies in lactating cows, in which from variables as diet and animal data, several prediction equations of CH₄ production were built. The most influential variable was the dry matter intake.

Introducción General

La reducción en la emisión de gases efecto invernadero (GEI) juega un papel importante en la prevención de las futuras implicaciones del calentamiento global y en los patrones del clima (Steinfeld et al 2009, Johnson y Johnson 1995), por lo tanto, disminuir o retardar el cambio climático constituye el más serio desafío para la humanidad. El sector agropecuario emite el 18 % del total de las emisiones de los GEI antrópogénicos (Steinfeld et al 2009). El IPCC, FAO, EPA y otras entidades, han calculado que la contribución del ganado a las emisiones mundiales de los GEI antropogénico representan entre el 7 y el 18 % de las emisiones totales (FAO 2013). Otros han calculado que la contribución de la producción ganadera a las emisiones globales de los GEI está entre el 8 y el 11 % (O'Mara 2011). Beauchemin et al (2008) mencionan que el ganado rumiante contribuye en aproximadamente un 28% de todas las fuentes antropogénicas de

emisiones de metano (CH_4), debido a que lo producen durante la fermentación entérica y a partir de estiércol almacenado (Lesschen et al 2011). El CH_4 produce un efecto negativo a nivel ambiental y productivo, pues representa una pérdida de la energía bruta consumida por el animal que no puede ser transformada en leche o carne, Johnson y Johnson (1995) y Johnson et al (2007) mencionan que la pérdida puede oscilar entre el 2 a 12%.

Es importante conocer la producción de CH_4 asociada a los sistemas de producción de leche, ya que esta posee una estrecha relación con la composición de la dieta, los procesos digestivos y productivos.

Nuestros sistemas de lechería especializada se basan en el pastoreo, por ello se necesitan forrajes con un menor contenido de fibra y una mayor proporción de carbohidratos de rápida fermentación que podrían reducir la producción de CH_4 (Beauchemin et al 2008); adicionalmente, debido a que con el aumento de la edad, se da un aumento en la fibra de la pared celular; las edades de pastoreo de las praderas pueden variar de acuerdo a la carga animal, nivel de fertilidad del suelo, manejo agronómico y factores medio ambientales que afectan la producción de biomasa, la calidad composicional y digestibilidad de los forrajes (Lyons et al 1996, Van Soest 1993).

Durante la fermentación de hidratos de carbono de la pared celular a acetato y butirato, se genera el sustrato principal para la metanogénesis: el hidrógeno (H_2) (Moss et al 2000, Yu et al 2016). Dietas altas en fibra aumentan la producción de acetato (por liberación de H_2), mientras que las dietas con alto contenido de almidón favorecen la formación propionato (Valadares et al 1999) y por lo tanto, disminuyen la formación de H_2 . Por ello, las dietas ricas en almidón producirán una menor emisión de CH_4 . Sin embargo, uno de los limitantes más importantes en la competitividad de la lechería especializada en Colombia (Sur América) es el alto costo de la suplementación.

A su vez, una de las materias primas más utilizadas en la elaboración de los suplementos para vacunos lecheros es el grano de maíz (MADR 2005), debido a su valor energético, alto contenido en almidón y grasa, y su bajo nivel de fibra; pero el uso de este grano en la alimentación animal compite con la alimentación humana y la producción de biocombustibles, reduciendo su disponibilidad y aumentando el valor asociado con su comercialización.

En la actualidad ha tomado gran importancia la investigación de materias primas que puedan ser una alternativa de reemplazo del maíz en los suplementos y que permitan contribuir a la reducción de las emisiones de CH₄, representando un factor de competitividad en el mercado mundial y un desafío nutricional y económico. Entre los posibles sustitutos parciales a la energía aportada por el maíz grano (MZ), se ha propuesto el uso de Sorgo grano bajo en taninos (*Sorghum vulgare*) (SG), raíz de yuca (*Manihot esculenta*) (YC) y pulpa cítrica de naranja deshidratada (*Citrus sinensis*) (PCD). El Sorgo grano presenta una fermentación ruminal más lenta frente al maíz, por la dureza de la matriz proteína-almidón (Herrera-Saldana et al 1990 y Theurer et al 1999), la yuca (raíz), tiene una degradabilidad efectiva de almidón mayor que el maíz y el sorgo, debido a una mayor proporción de amilopectina que amilosa de (75:25) (Zeoula y Caldas 2001 y Fernández et al 2014); el impacto sobre la emisión de CH₄ con el uso de la pulpa cítrica se desconoce, debido a que contribuye con menos efectos negativos a la fermentación ruminal, pues las reducciones en el pH son menores que cuando se usan alimentos ricos en almidón, lo que evitaría la acidosis ruminal (Bampidis y Robinson 2006), debido a su alto contenido de pectinas (22%-31%) y fibra de alta calidad (23% FDN, digestible en rumen un 82-89% y 15% FDA, digestible en rumen en un 72%) (Keller 1984, Bampidis y Robinson 2006, Lashkari y Taghizadeh 2015).

Para evaluar las producciones de CH₄ bajo diferentes estrategias de mitigación, se requiere de un método preciso, confiable y de fácil manejo. Los métodos más comunes para cuantificar la producción de CH₄ son costosos y presentan varias limitantes; la cámara respirométrica (Verstegen et al 1987), permite obtener mediciones confiables y precisas sobre los gases producidos; pero su falencia está en que los animales en el

momento de la medición se encuentran en confinamiento y es una técnica de alto costo (Berends et al 2014). Para corregir las desventajas anteriores, existe otra técnica ampliamente utilizada: la del trazador hexafluoruro de azufre (SF₆), que permite realizar mediciones en pastoreo, pero es una técnica de alta variabilidad (Johnson et al 2007). Existe otra estrategia a través de modelos matemáticos para predecir la producción de CH₄ de ganado vacuno, asociada a características composicionales de la dieta, procesos digestivos, productivos, estados fisiológicos etc, sin llevar a cabo una gran cantidad de experimentos que son costosos (Ellis et al 2007).

Literatura citada

Bampidis V A, Robinson P H 2006 Citrus by-products as ruminant feeds: A review. *Animal Feed Science and Technology*. 128: 175-217. <http://kenanaonline.com/files/0028/28692/Citrus%20by-products%20as%20ruminant%20feeds.pdf>

Beauchemin K A, Kreuzer M, O'mara F, and McAllister T A 2008 Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Animal Production Science*. 48: 21-27. https://www.researchgate.net/publication/248892137_Nutritional_management_for_enteric_methane_abatement_A_review

Berends H, Gerrits W J J, France J, Ellis J L, Van Zijderveld S M and Dijkstra J 2014 Evaluation of the SF₆ tracer technique for estimating methane emission rates with reference to dairy cows using a mechanistic model. *Journal of Theoretical Biology*. 353: 1-8.

Ellis J L, Kebreab E, Odongo N E, McBride B W, Okine E K and France J 2007 Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *Journal of dairy science*. 90: 3456-3467. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(07\)71795-2/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(07)71795-2/pdf)

FAO (Food and Agricultura Organization) 2013 Mitigación de las emisiones de gases de efecto invernadero en la producción ganadera. Una revisión de las opciones técnicas para la reducción de las emisiones de gases diferentes al CO₂. FAO. Roma.

Fernández A E, Jersonsky R, Coria M 2014 Aprovechamiento metabólico de Granos de sorgo entero con Diferentes Contenidos de taninos en novillos Británicos. Pastos y Forrajes. 37: 191-197. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-03942014000200009&script=sci_arttext&tlnq=en

Herrera - Saldana R E, Hubber J T, Poore M H 1990 Dry matter, crude protein and starch degradability of five cereal grains. Journal of Dairy Science. 73: 2386-2393. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(90\)78922-9/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(90)78922-9/pdf)

Johnson K A and Johnson D E 1995 Methane emissions from cattle. Journal of animal science. 73: 2483-2492. <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/73/8/2483>

Johnson K A, Westberg H H, Michal J J, Cossalman M W 2007 The SF6 Tracer Technique: Methane Measurement from Ruminants. Measuring Methane Production from Ruminants, pp 33-67.

Keller J 1984 Pectin. In: Gum and starch technology. 18th Annual Symposium. Special report 53.

Lashkari S, Taghizadeh A 2015 Digestion kinetics of carbohydrate fractions of citrus by-products. Veterinary Research Forum. 6: 41-48. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4405684/>

Lesschen J P, Van den Berg M, Westhoek H J, Witzke H P and Oenema O 2011 Greenhouse gas emission profiles of European livestock sectors. *Animal Feed Science and Technology*. 166: 16-28.

Lyons R K, Machen R, and Forbes T D A 1996 Why Range Forage Quality Changes; Texas Agricultural Extension Service.
http://oaktrust.library.tamu.edu/bitstream/handle/1969.1/87763/pdf_714.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) 2005 La cadena de cereales, alimentos balanceados para animales, avicultura y porcicultura en Colombia. Una mirada global de su estructura y dinámica: 1991-2005. Observatorio Agrocadenas Colombia – Documento de Trabajo No. 87, pp 95.

Moss A R, Jouany J P and Newbold J 2000 Methane production by ruminants: Its contribution to global warming. *Annales De Zootechnie*. 49: 231-253.

O'Mara F P 2011 The significance of livestock as a contributor to global greenhouse gas emissions today and in the near future. *Animal Feed Science and Technology*. 166: 7-15.

Steinfeld H, Gerber P, Wassenaar T, Castel V, Rosales M y Haan C 2009 La larga sombra del ganado, Problemas ambientales y Opciones. Organización para la Agricultura y la Alimentación de Naciones Unidas. Traducción española de *Livestock's Long Shadow* (2006). <http://www.fao.org/3/a-a0701s.pdf>

Theurer C B, Lozano O, Alio A, Delgado-Elorduy A, Sadik M, Huber J T, Zinn R A 1999 Steam-processed corn and sorghum grain flaked to different densities alter ruminal, small intestinal and total tract digestibility of starch by steers. *Journal of animal science*. 77: 2824-2831.
<https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/77/10/2824>

Valadares R F D, Broderick G A, Valadares Filho S C and Clayton M K 1999 Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. Journal Dairy Science. 82: 2686-2696. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(99\)75525-6/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(99)75525-6/pdf)

Van Soest P J 1993 Evaluación de forrajes y calidad de los alimentos para rumiantes. Vol 20.

Verstegen M W A, VanderHel W, Brandsma H A, Henken A M and Bransen A M 1987 The Wageningen Respiration Unit for Animal Production Research: A Description of the Equipment and its Possibilities. Energy Metabolism in Farm Animals. Springer Netherlands, pp 21-48

Yu J, Zhao Y, Liu B, Zhao Y, Wu J, Yuan X and Cui Z 2016 Accelerated acidification by inoculation with a microbial consortia in a complex open environment. Bioresource technology. 216: 294-301.

Zeoula L M, Caldas Neto S F 2001 Recentes avanços em amido na nutrição de vacas leiteiras. In: Simpósio Internacional En Bovinocultura de Leche, 2. Universidade Federal de Lavras, pp 249-284.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar el efecto de diversas estrategias nutricionales que contribuyan a mitigar las emisiones de metano en ganadería de leche especializada.

Objetivos Especificos

1. Evaluar el efecto de la edad de corte de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinum*), Ryegrass (*Lolium Hybridum*) y su mezcla, sobre la digestibilidad de la MS, producción de CH₄ y el perfil de fermentación *in vitro*.
2. Evaluar la sustitución energética del maíz (*Zea mays*) en dietas para rumiantes sobre digestibilidad de la MS, producción de CH₄ y el perfil de fermentación *in vitro*.
3. Establecer a través de un meta-análisis, ecuaciones de predicción de producción de CH₄ entérico para ganado bovino lechero, a partir de datos de composición química y digestibilidad de la dieta, consumo de alimento, producción de leche y parámetros ruminales.

CAPITULO I

Marco Teórico

Manejo de factores asociados a la alimentación sobre la emisión entérica de metano en rumiantes

Resumen

El metano es uno de los gases con efecto invernadero de mayor influencia en el cambio climático, por ello es fundamental conocer el proceso de formación y la relación que tiene con diversos factores que afectan su producción, para utilizar este conocimiento en estrategias de alimentación que mitiguen el impacto en el medio ambiente.

En el sector agropecuario, la producción ganadera mundial contribuye con el 18% de las emisiones de gases efecto invernadero (GEI), un porcentaje mayor que el correspondiente a los medios de transporte (FAO 2009).

En los sistemas de lechería especializada en climas fríos de Colombia, cuya temperatura promedio es menor de 20 °C, la dieta se compone generalmente de pasto y suplemento comercial, en una proporción aproximada de 60:40 respectivamente. La base forrajera es el pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinum*), seguido del pasto ryegrass (*Lolium perenne L.*) y sus mezclas con el kikuyo en menor proporción (Carulla et al 2004).

El pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinum*), es un pasto tropical C4 originario de la región de Kikuyo en Kenia y se ha establecido exitosamente en Colombia, siendo el pasto dominante en las praderas de clima frío. En la zona lechera fría de Antioquia la edad de pastoreo puede ir desde los 25 días de rebrote en adelante. El *Lolium perenne L.*, pasto C3 cuyo nombre indica que garantiza una larga vida de la pradera, en Antioquia en la zona de lechería especializada de clima frío, la edad de pastoreo puede estar entre los 25 y 30 días de rebrote cuando está como monocultivo, si está asociado con kikuyo puede estar alrededor de los 38 días de pastoreo. Estas dos especies forrajeras tienen diferencias en sus características composicionales y nutricionales, pues sus rutas

metabólicas en la captura y fijación de CO₂ tienen diferente origen genético (Aguilar et al 2009).

Los forrajes tienen una composición química variable que se ve afectada por la especie, la ruta para fijar el carbono en la fotosíntesis, la fertilidad del suelo, la edad y las prácticas agronómicas. Adicionalmente, la alimentación solo con forrajes no es suficiente para cumplir con los requerimientos nutricionales y productivos de las vacas de elevadas producciones en las lecherías especializadas, por ello es necesario complementar la dieta con suplementos comerciales que presenten un aporte importante de energía y evaluar alternativas de materias primas que puedan ser usadas en los suplementos y que ayudarían a reducir la producción de CH₄ por cambios en la fermentación ruminal.

Palabras clave: suplementos comerciales, lechería, pastos.

Summary

Given the importance of the greenhouse effect of methane gas in climate change, it is essential to know its formation and how is related to various factors affecting their production, in order to use this knowledge in strategies to mitigate its impact on the environment.

In the agricultural sector, global livestock production contributes 18% of greenhouse gas emissions (GGE), a higher percentage than transport **vehicles** (FAO 2009).

In our specialized dairy systems in cold climates of Colombia (South America), with an average temperature less than 20 ° C, the diet is usually composed of grass and commercial supplement, 60:40 respectively. The forage base is the Kikuyu (*Cenchrus clandestinum*) grass, followed by Ryegrass pasture (*Lolium perenne* L.) and mixtures with Kikuyu in a lower proportion (Carulla et al 2004).

The kikuyu grass (*Cenchrus clandestinum*) is a C4 tropical grass from the region of Kikuyu in Kenya and it has successfully established in Colombia, still the dominant grass in the meadows of cold weather. In our conditions age grazing can range from 25 days of regrowth on. The Ryegrass L, grass C3 whose name indicates that guarantees a long life on the prairie, in our age grazing conditions may be between 25 and 30 days of regrowth when it's used as a monoculture, if it is associated with kikuyo it can be around 38 days grazing. These two forage species have differences in their compositional and nutritional characteristics, because their metabolic pathways in the capture and fixation of CO₂ have different genetic origin.

The forages have variable composition and is affected by the species, the route to fix carbon in photosynthesis, soil fertility, age and agronomic practices, feeding only forage is not enough to reach the nutritional and productive requirements of specialized dairy farms, so it is necessary to complement the diet with commercial supplements that have significant energy input and evaluate alternative raw materials that can be used in supplements and to help in reducing the production of CH₄ by changes in ruminal fermentation.

Keywords: commercial supplements, dairy, pasture.

Introducción

El metano (CH₄) es un GEI producido a partir de la fermentación anaerobia de material orgánico. Este gas posee un efecto negativo a nivel ambiental y representa una pérdida de la energía consumida por el animal, que no puede ser transformada en leche o en carne (Harinder y Makkar 2007), por tal razón, es un reto para el sector agropecuario enfocar sus esfuerzos para mejorar la nutrición y alimentación de los rumiantes y así contribuir con reducciones en la emisión de CH₄ para disminuir o retardar el cambio

climático global, cuyas implicaciones actuales son: aumento de la temperatura, el crecimiento del nivel del mar, el deshielo de los casquetes polares y los glaciares, los cambios en las corrientes oceánicas y en los patrones del clima (Steinfeld et al 2009).

La estrategia del uso de diversas fuentes de carbohidratos racionalmente formulados, al igual que las características físicas y químicas del alimento que pueden afectar directamente el nivel de consumo, la frecuencia de alimentación, la tasa de pasaje, manipulación de la fermentación ruminal, adición de lípidos y otros aditivos en la dieta, tienen un aporte en la mitigación de CH₄ (Johnson y Johnson 1995, Cobellis et al 2016).

En la actualidad es necesario que en Colombia se genere más información sobre la emisión de gas metano (CH₄) caracterizada de acuerdo a los sistemas productivos agropecuarios, conociendo la composición química y física de las dietas, las características de las materias primas usadas en los suplementos comerciales, el tipo de pastura y la edad de pastoreo que consumen los rumiantes y todos los procesos digestivos y productivos. Por ello la presente revisión tendrá por objeto enunciar el efecto de diferentes fuentes de carbohidratos sobre la producción de metano.

Calentamiento global: el metano como parte de la problemática ambiental

Según el (IPCC 2007) el cambio climático se define como la variación del estado del clima identificable y supone un incremento de la temperatura media, que parece estar asociada con un aumento de la frecuencia de fenómenos climáticos extremos. Uno de los factores responsables de estos cambios que día a día vienen sucediendo son los GEI que se acumulan en la atmósfera, debido al aumento de emisiones provenientes de las actividades humanas o a procesos internos naturales que modifican la composición de la atmósfera o el uso de la tierra (Steinfeld et al 2009).

El efecto invernadero es un mecanismo fundamental para la regulación de la temperatura, sin el cual la temperatura media de la superficie terrestre no sería de 15 °C sino de -6 °C.

La tierra emite de nuevo al espacio la energía recibida del sol a través de la reflexión de la luz y las emisiones de calor. Una parte del flujo de calor viene absorbida por los gases denominados de efecto invernadero y queda atrapado en la atmósfera. Entre los principales GEI que guardan relación con este proceso se destacan el dióxido de carbono (CO_2), el metano (CH_4) que tiene un potencial de calentamiento 21 a 25 veces superior al del CO_2 , el óxido nitroso (N_2O) y los clorofluorocarbonos (Steinfeld 2009, IPCC 2007). Las concentraciones de GEI en la atmósfera aumentan cuando las emisiones son superiores en magnitud a los procesos de detracción (IPCC 2007).

Debido a los cambios actuales como el aumento del nivel del mar, el deshielo de los casquetes polares y los glaciares, variaciones en las corrientes oceánicas y en los patrones del clima, se requiere de grandes esfuerzos mundiales para aminorar estos efectos. El sector agropecuario podría ser el primer responsable de la pérdida de biodiversidad, por causar deforestación, degradación del suelo, sobreexplotación de recursos pesqueros, sedimentación de zonas costeras, propagación de especies invasivas exóticas, entre otras. A lo anterior hay que añadir que los conflictos por los recursos con los productores agropecuarios suponen una amenaza para diversas especies de predadores salvajes y para las áreas protegidas cercanas a los terrenos de pasturas (Steinfeld 2009).

El CH_4 , después del CO_2 , es el compuesto de carbono más abundante en la atmósfera. Se produce por la fermentación de la materia orgánica en condiciones anaeróbicas, tal como ocurre, en los humedales, los sedimentos lacustres y en el aparato digestivo de los rumiantes y las termitas (Schlesinger 1997).

El CH_4 es uno de los seis gases de efecto invernadero que el Protocolo de Kyoto se propone reducir. Es el componente principal del gas natural, y está asociado a todos los hidrocarburos utilizados como combustibles, a la ganadería y a la agricultura (IPCC 2007).

Proceso químico de producción del metano en rumiantes

La producción de CH_4 hace parte de los procesos digestivos normales de los animales. Durante la digestión, los microorganismos presentes en el aparato digestivo fermentan el alimento consumido por el animal. Este proceso conocido como fermentación entérica, produce metano como un subproducto, que puede ser eructado por el animal en aproximadamente un 87% proveniente del rumen y 13% restante en el tracto digestivo posterior, de este último se reabsorbe en el torrente sanguíneo y se expira a través de los pulmones, en las excretas solo saldría aproximadamente el 1.5% del total de CH_4 producido (Berra y Finster 2002, Murray et al 1976). Se estima que el ganado rumiante puede producir entre 250 a 500 L de metano por día (Johnson and Johnson 1995).

Al ser el ambiente ruminal fuertemente anaeróbico, los microorganismos sólo disponen de la vía glucolítica para obtener energía, produciendo ácidos grasos volátiles (AGVs) (principalmente acético, propiónico y butírico), ATP y $\text{NADH} + \text{H}^+$. Los microorganismos utilizan el ATP como fuente de energía y eliminan los AGVs como un producto de desecho. Para poder degradar una segunda molécula de glucosa por la vía glucolítica necesitan que el cofactor que se ha reducido NADH sea nuevamente oxidado a NAD y H_2 , este proceso es imprescindible para mantener la eficiencia energética en los procesos de fermentación ruminal (Beauchemin et al 2008, Doré y Gouet 1991). Como el metabolismo ruminal microbiano es anaerobio, por lo tanto no existe una cadena respiratoria que acepte estos hidrogeniones, los microorganismos los transfieren a distintos aceptores o sumideros de hidrógeno; uno de los principales es el CO_2 , originando la formación de CH_4 (Moss et al 2000), también existen otros sumideros de hidrógeno como la formación de ácido propiónico y biohidrogenación de ácidos grasos insaturados (Van Soest 1994).

Una de las más importantes alternativas a la disminución de metanogénesis en el rumen es la estimulación de producción de propionato por ser posiblemente el mejor sumidero de hidrógeno (Kobayashi 2010) y así mejorar la capacidad productiva de los animales traducido en menos CH_4 producido por unidad de leche o carne.

Proceso de hidrólisis de carbohidratos en forrajes y su relación con el metano

La composición nutricional de los forrajes está influenciada por varios factores como el genotipo, estado de madurez, período de cosecha y manejo, altitud, latitud, temperatura, clima, humedad, luz, tipo y nivel de fertilización (Baruch y Fisher 1991, Van Soest 1994, Aumont et al 1995, Merry et al 2006, Sarmadi et al 2016).

Los pastos tropicales generalmente tienen menos digestibilidad que los de clima templado y se clasifican como plantas C4 y los pastos templados como plantas C3. El 52% de los pastos tropicales está por debajo de 55% de TND en contraste con solo 4% de los pastos templados (Van Soest 1982). Además, las plantas tropicales tienen una mayor tasa de lignificación, lo que también disminuye su digestibilidad. Con el incremento de la madurez de forraje, en general hay una disminución en el contenido de nitrógeno y su digestibilidad, y un aumento en el contenido de fibra y lignina (Arthington y Brown 2005).

En la planta C3, los haces vasculares están más separados, por lo que hay mayor cantidad de parénquima o mesófilo en la planta, el cual es muy digestible; en consecuencia, existe una mayor proporción de partes digestibles en las hojas de las plantas de clima templado. Por el contrario, en las plantas C4 (pasto tropical), hay mayor cantidad de haces vasculares, los cuales son de menor digestibilidad (Van Soest 1993).

En regiones templadas, ocurren heladas que limitan el crecimiento de las plantas, por el contrario en las regiones tropicales las plantas pese a sufrir con la sequía o recibir un corte, continúan su crecimiento en un ambiente más cálido donde aumentan su tasa fotosintética y por tanto, su digestibilidad disminuye por una mayor lignificación de la pared celular, que es el proceso de sellado de las paredes vegetales a través de la deposición de lignina, que proporciona fuerza mecánica a la planta, principalmente a los tallos (Van Soest 1978, Ruiz et al 2008, Uzal 2008).

Los principales factores que condicionan la eficacia del proceso de hidrólisis de carbohidratos son el grado de lignificación de la fibra, que dificulta la actuación de los microorganismos, y el tiempo de que disponen estos para realizar la digestión (De Blas et al 2008). En zonas con mayor altitud (montañosas), puede presentarse que el mismo forraje tenga un menor contenido de lignina y mayor digestibilidad que si estuviese en las

partes bajas, lo que significa que las temperaturas más frías dominan sobre la humedad para promover una mayor digestibilidad. Las plantas tropicales para poder sobrevivir, invierten sus reservas en estructuras de resistencia (lignina, celulosa y hemicelulosa), la lignina afecta considerablemente la digestibilidad y las reservas metabólicas de las plantas, por lo que la edad afecta más a las plantas tropicales que a las de zonas templadas (Van Soest 1993).

Las mediciones de CH_4 muestran diferencias entre individuos por unidad consumida de alimento (Robertson et al 2002). Esto puede deberse a la microflora de cada individuo, incluso cuando se alimentan con las mismas dietas y los animales pueden tener efectos significativos en las tasas de fermentación, lo que afectará a la metanogénesis. Los microorganismos productores de hidrógeno en la degradación de la fibra incluyen hongos, bacterias fibrolíticas y protozoos, su asociación con metanógenos en particular las *archaea* metanogénicas, permite la utilización de hidrógeno en la síntesis de metano (Weimer 1998, Kobayashi 2010, Bodas et al 2012). Aunque los metanógenos no producen enzimas fibrolíticas, mejoran la eficiencia energética y el alcance de la digestión de fibra por otros microorganismos ruminales mediante la prevención de la acumulación de nucleótidos reducidos (por ejemplo, NADH) a través de transferencia de hidrógeno. Por lo tanto la síntesis de CH_4 es considerada como un proceso simbiótico entre los microorganismos que producen hidrógeno y los metanógenos que lo consumen (Williams et al 1994, Leng 2014).

Cuando las vacas lecheras lactantes son alimentadas con diferentes cantidades de una dieta donde la mayor participación sea de forraje, la respuesta en las emisiones de metano (CH_4 g/Día) es lineal al consumo de materia seca (Ellis et al 2010, Hristov et al 2013). A su vez Rico et al (2015) y Chung et al (2011) sugieren que existe una importante interacción y diferente producción de CH_4 dependiendo del tipo de forraje.

Probablemente las diferencias en la fermentación ruminal surjan a partir de variaciones en la salivación, la masticación, los patrones en las tomas de alimento, y los efectos asociados sobre la tasa de pasaje del rumen, poblaciones microbianas y los productos

de la fermentación, incluyendo el suministro de hidrógeno (Waghorn 2006, Janssen 2010).

Montenegro y Abarca (2000) consideran que cuando los bovinos son alimentados con forrajes de baja calidad nutritiva, se presentan deficiencias en nutrientes esenciales para los microorganismos ruminales, por lo que la eficiencia en el crecimiento de éstos en el rumen es baja. Bajo estas circunstancias, la producción de CH₄ podría representar entre el 15 y el 18% de la energía digestible. La corrección de estas deficiencias nutricionales podrían reducir las pérdidas a valores cercanos al 7%. La celulosa y hemicelulosa se fermentan a un ritmo más lento que los carbohidratos no estructurales, por lo tanto se produce más CH₄ por unidad de sustrato digerido (McAllister et al 1996, Stergiadis et al 2016).

La producción de CH₄ se puede reducir por medio del consumo de forrajes con mejor calidad nutricional a través de pastoreo en praderas menos maduras, o el uso de pasturas mejoradas, que presentan una menor fibra y más carbohidratos solubles (Beauchemin et al 2008). La mejora de la calidad del forraje también tiende a aumentar el consumo voluntario, reducir el tiempo de retención en el rumen; promoviendo una digestión a nivel post-ruminal energéticamente más eficiente, que reduce la proporción de energía alimentaria que se convierte en CH₄ (Pinares-Patiño et al 2007, Blaxter y Clapperton 1965).

En muchas regiones tropicales de África, Asia y América Latina, la productividad de los animales está limitada por bajos contenidos de nitrógeno y el alto contenido de fibra, principalmente de los pastos nativos y residuos de cultivos, que forman la base de la dieta en estas regiones. Los animales en este tipo de dietas emiten más CH₄ que los animales alimentados con una mejor calidad de forrajes de climas templados (Harinder y Makkar 2007). La naturaleza y cantidad de las fracciones de la pared celular, así como el contenido de proteína cruda (PC) de los forrajes influyen en los valores de degradabilidad ruminal (Van Soest 1994). Existe una correlación positiva observada entre la FDN y la producción de gas *in vitro* (Kumara Mahipala et al 2009). El mismo autor señala que existe

una correlación negativa de 0.39 entre PC y el volumen total de gas *in vitro*, y menciona que este efecto negativo podría ser explicado por altos contenidos de nitrógeno soluble.

Por otro lado, en climas fríos en sistemas de producción de leche del departamento de Antioquia y del antiplano cundiboyacense ubicados en Colombia, cuya temperatura promedio es menor de 20° C, la base forrajera es el pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinum*) seguido del ryegrass y sus híbridos. El kikuyo presenta alto contenido de PC > 15.4% y de FDN (fibra en detergente neutro) > 50%, y bajo contenido de carbohidratos no estructurales (CNE) < 17.2%, altos contenidos de nitritos y nitratos y altos ácidos grasos insaturados (Correa 2009), por lo que las vacas lecheras deben ser suplementadas con altas cantidades de alimentos ricos en CNE (suplementos comerciales), lo que hace que la producción de CH₄ deba ser menor, puesto que los altos contenidos de nitritos y nitratos y ácidos grasos insaturados provenientes del pasto son buenos sumideros de hidrogeniones, debido a los procesos de biohidrogenación ruminal y el aumento en producción de propionato y butirato, entre otros. El ryegrass (*Lolium spp*) y sus híbridos, han sido utilizados en mayor grado en las zonas lecheras del altiplano Cundiboyacense y Nariño (Carulla et al 2004). Teniendo en cuenta que en general, el contenido energético del pasto kikuyo es menor al de los ryegrasses (Meeske et al 2006), Gaitán y Pabón (2003) encontraron que el contenido de energía neta de lactancia (ENL) de esta gramínea es aproximadamente 20% más bajo que el del ryegrass perenne, al igual que presenta un FDN mayor (50%) frente a (40.8%) para el ryegrass cuando son cultivados bajo las mismas condiciones, esperaríamos que el kikuyo produzca más CH₄ que el ryegrass.

La ingesta de alimento, disminuye la producción de CH₄, pues aumenta la tasa de pasaje (Janssen 2010, Hammond et al 2013). A su vez existe una relación inversa entre el rendimiento de CH₄ y composición química o digestibilidad de la materia seca (Johnson y Johnson 1995).

Pastoreo en lechería especializada en Colombia

En la mayoría de sistemas productivos de lechería especializada existe una base forrajera predominante de kikuyo (*Cenchrus clandestinum*) debido a su alto poder invasivo por su hábito de crecimiento estolonífero (Fukumoto y Lee 2003), a que es resistente al pisoteo (Miles et al 2000) y responde positivamente a la fertilización orgánica (Mila y Corredor 2004) y química (Soto et al 2015); para mejorar la calidad de las praderas, se viene realizando siembra de pasturas mejoradas como el ryegrass anual o perenne (*Lolium multiflorum* y *Lolium perenne*) (Posada et al 2013, Botha 2003). Los monocultivos de ryegrass con el paso del tiempo pueden resultar mezclados con kikuyo, debido a las malas prácticas en siembra y pastoreo del mismo.

Un porcentaje elevado de los sistemas de producción de leche especializados en el país están basados en el pastoreo rotacional con cerca eléctrica y son suplementados con alimentos comerciales (Concejo Regional de la Cadena Láctea de Antioquia 2001, Osorio 2004, Rivera et al 1998). La edad de pastoreo puede variar dependiendo de la carga animal, época de invierno o verano, nivel de fertilización y disponibilidad forrajera; el kikuyo se pastorea en las lecherías desde los 25 días de rebrote en adelante y el ryegrass aproximadamente entre los 25 y 30 días de rebrote cuando está como monocultivo, si está asociado con kikuyo puede estar alrededor de los 38 días de pastoreo.

Especies forrajeras C3 y C4

El proceso de fotosíntesis consiste en una serie de reacciones que permiten convertir la energía lumínica en energía química, que tiene como resultado final importante para la planta la producción de carbohidratos; este proceso fotosintético se encuentra dividido en dos grupos de reacciones, las dependientes de la luz y las de fijación del carbono. Las plantas C4 en la fijación inicial de CO₂ en la fotosíntesis producen el ácido oxalacético y las plantas C3 producen ácido 3 fosfoglicérico, compuestos con 4 y 3 átomos de carbono respectivamente (Pérez-Urria 2011).

Los pastos tropicales se clasifican como plantas C4 y los pastos de las zonas templadas como plantas C3 (Van Soest 1993); en este trabajo se utilizó Kikuyo (*Cenchrus*

clandestinum) planta C4 y Ryegrass (*Lolium perenne* L.) planta C3, pues el objetivo fue evaluar el efecto de cada pasto y sus mezclas, debido a que sus rutas metabólicas en la captura y fijación de CO₂ tienen diferente origen genético y esto puede influir en la producción de CH₄ entérico (Aguilar et al 2009).

Todos los eucariotes fotosintéticos, desde el alga más primitiva a la angiosperma más avanzada, reducen el CO₂ a carbohidratos a través del mismo mecanismo básico: el ciclo de reducción de carbono fotosintético descrito originalmente para las especies C3 (el ciclo de Calvin). Otras rutas metabólicas asociadas con la fijación previa de CO₂, tales como el ciclo de asimilación fotosintética del carbono C4, ciclo ácido de las crasuláceas (CAM) y el ciclo de oxidación fotorespiratoria del carbono, son auxiliares o dependiente del ciclo básico de Calvin (Taiz y Zeiger 2002).

Las rutas auxiliares mencionadas, entre ellas la C4 y CAM, surgen principalmente como fuerzas evolutivas de las plantas frente al aumento en la temperatura que trajo consigo la disminución de la concentración de CO₂ y de presión de vapor atmosférico, además de la disponibilidad limitada de agua por la presencia de lluvias estacionales (Edwards y Smith 2010, Taylor et al 2012).

Las C4 tropicales se han caracterizado en general por poseer una alta acumulación de materia seca pero de bajo valor nutritivo, sus procesos fotosintéticos son muy eficientes, debido a que su selección estuvo orientada hacia la producción de materia seca y a que se desarrollan en regiones geográficas donde la radiación solar y la temperatura ambiente les permite crecer en forma más o menos continua durante todo el año, siempre y cuando dispongan de suficiente humedad (Minson 1990; Van Soest 1994), adicional son más sensibles al frío, toleran elevadas concentraciones de CO₂ atmosférico y su enraizamiento es más profundo que los forrajes C3 (Bell et al 2011). El contenido de las paredes celulares en los pastos tropicales es más constante y por tanto, es una variable menos importante en la afectación del consumo de esas especies de plantas (Milford y Minson 1965). Solamente la mitad de los pastos C4 tiene un nivel de PC adecuado para los niveles recomendados para mantenimiento en ganado. El bajo nivel de PC en pastos

tropicales está asociado con las rutas fotosintéticas de los C4 por tener haces vasculares largos en las hojas y alta proporción de tallo (Minson y Wilson 1980). En el norte del departamento de Antioquia la PC promedio del kikuyo fue de 20.5%, el valor más alto estuvo en 27.1%, este alto contenido de PC se debe a los intensos planes de fertilización nitrogenada química, alternada en algunos sitios con fertilización orgánica a través de riegos con porquinaza o bovinaza a las que son sometidas las praderas, lo que además, modifica las características químicas y nutricionales de la PC manifestándose en un incremento en el contenido de nitrógeno no protéico, particularmente de nitratos (Carulla et al 2004, Correa 2006, Marais 2001).

La fermentación de pastos tropicales C4, en un meta-análisis resultó en una mayor emisión de CH₄ (10-17%) que las gramíneas de zonas templadas C3 (Archimède et al 2011). *In vivo* se observó una disminución del 20% en la emisión de CH₄ con ryegrass rico en azúcar (DEFRA, 2010). Sin embargo, Staerfl et al (2012) no encontraron una diferencia en la emisión de CH₄ *in vivo* entre un ryegrass rico en azúcar y uno regular. Los pastos tropicales tienen mayor cantidad de FDN o de partes estructurales y presentan una densidad variable con menos calidad en el contenido de las células, de lo que deriva la diferencia en calidad de una planta tropical con una de clima templado; el rango aproximado de FDN es más estrecho (65 a 80 % FDN) en los forrajes C4, en el caso de los pastos de zona templada el rango va de 35 a 80 %, por lo que es más fácil que haya correlación inversa de la digestibilidad con la FDN para estos que para los tropicales (Van Soest 1993).

En el estudio de Bell et al (2011) donde se simularon varios escenarios climáticos históricos y futuros de Australia, se observó que el rendimiento del pasto kikuyo y su energía metabolizable (EM) respondió con más fuerza a un aumento de la temperatura ambiente frecuente, hasta de 4°C, comparado con el ryegrass perenne que se comporta mejor en temperaturas más bajas. Teniendo en cuenta que el futuro proyecta cambios climáticos, este estudio sugiere que no sería beneficioso tener solo al kikuyo como fuente principal de EM sino tener también la opción del ryegrass. Sin embargo, en todos los sitios que estos autores estudiaron, el kikuyo podría ser una fuente útil de EM durante los

meses de diciembre a febrero comparado con ryegrass perenne por su menor tolerancia al calor.

Origen del pasto kikuyo y del pasto Ryegrass

De las zonas de alturas entre 2000 y 3000 metros en África, en Kenia y específicamente del monte Kilimanjaro, se trajo a Colombia el pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinum*), pero, aun siendo territorios similares, la zona de donde es originario este pasto dispone de 2247 horas de brillo solar al año y en Colombia, en las zonas de alturas similares donde fue implantado, solamente se disponen de 1600 horas de brillo solar anuales. En Kenia, por ejemplo, no se presenta en los bovinos la intoxicación por nitratos por el consumo de pasto kikuyo (Uribe 2014).

El ryegrass perenne (*Lolium perenne L.*) es un pasto proveniente de la zona templada de Asia y Norte de Europa, es un forraje de clima templado que se adapta a zonas entre los 1800 y 3600 msnm, arriba de los 3000 msnm su crecimiento se reduce y los períodos de recuperación se deben prolongar entre 2 y 4 semanas. Los suelos donde crece deben ser de media a alta fertilidad, con un drenaje adecuado y pH superior a 5.5; es exigente a la nutrición de nitrógeno, fósforo y potasio (Villalobos y Sánchez 2010); su valor nutricional es superior al de los pastos tropicales de altura (>2500 msnm) (Posada et al 2013).

Influencia de la edad sobre calidad composicional en las pasturas y parámetros ruminales

Con el avance en la edad de rebrote podría esperarse un incremento significativo en la producción de biomasa (Juárez et al 2001, Márquez et al 2007), esto no se apreció claramente en el experimento de Correa et al (2016) donde el material verde inicial en kg/m² fue de 4.96 y 5.52 para un kikuyo con 45.5 (Joven) y 79.5 (Maduro) días de rebrote respectivamente, fue estadísticamente similar.

La edad del pasto kikuyo no cambió los siguientes parámetros ruminales: pH, síntesis de proteína microbiana y concentración de amoníaco (N-NH_3) (Ruggia et al 2008 y Correa et al 2016), al igual que tampoco cambió la producción y la calidad composicional de la leche (Ehrlich et al 2003, Chilibroste et al 2000 y Correa et al 2016). La edad de rebrote afectó la concentración de proteína y de FDN del pasto kikuyo, a medida que aumenta la edad disminuye la PC y aumenta la FDN y el nitrógeno no protéico (NNP) (Aguilar 2009, Correa et al 2016, Alstrup et al 2016). Chilibroste et al (2000), reporta la reducción en el contenido de PC en el forraje al aumentar la edad de rebrote de pasto ryegrass (*Lolium perenne*). A medida que las plantas se aproximan a su latencia o madurez, los nutrientes se redistribuyen de las hojas a la raíz, lo que reduce la cantidad de células solubles, esto aumenta el porcentaje de pared celular (Lyons et al 1996).

Brask et al (2013) encontraron que el total de la producción diaria de CH_4 no mostró diferencias entre gramíneas jóvenes y maduras; sin embargo, como el CMS disminuyó con el aumento del estado de madurez, el CH_4 expresado por kilogramo de MS y energía ingerida aumentó en pastos más maduros. Pinares-Patino et al (2007) demostraron que las emisiones de CH_4 por kg de FDNd consumido aumentaron con el estado de madurez de los pastos. Por otro lado, Hellwing y Weisbjerg (2010) no encontraron ningún efecto de digestibilidad de forraje en la producción de CH_4 . Brask et al (2013) sugirieron que si se utiliza un forraje maduro este debe ser combinado en una relación forraje: suplemento comercial 50:50. Esta relación debe ser chequeada, pues un exceso en el consumo de suplemento comercial puede incrementar la cantidad de AGVs y ácido láctico en el rumen, superando su capacidad de absorción y el poder tampón del organismo del animal. La combinación de estos factores crea una disminución en el pH ruminal durante largos períodos en el día ($\text{pH} < 5.6$ por más de 3 horas), lo que favorece la acidosis ruminal subaguda y la acidosis aguda (Stone 2004, Owens et al 1998, Gozho et al 2005).

Proceso de hidrólisis de carbohidratos en materias primas usadas en la suplementación energética y su relación con el metano

El objetivo principal de la suplementación es aumentar el consumo total de MS y el consumo de energía respecto de aquellos que se pueden alcanzar con sólo pastoreo y con ello aumentar la producción de leche por vaca, la carga animal, la duración de las lactancias en épocas de producción de MS limitada, el contenido de proteína en la leche, mejorar la condición corporal, etc (Bargo et al 2003).

Debido a que los limitantes nutricionales principales de las praderas basadas en pasto kikuyo están asociados a su bajo contenido de energía y de proteína no degradable en rumen (PNDR) (Correa et al 2008, Gaitán y Pabón 2003, Marais 2001) es necesario realizar suplementación a las vacas con suplementos comerciales (conocidos como concentrados) (Concejo Regional de la Cadena Láctea de Antioquia 2001, Osorio 2004, Rivera et al 1998), adicional porque en sistemas intensivos donde las vacas son de alta producción >20lt leche vaca/día, la suplementación permite incrementar el consumo y por ende la productividad de los animales (Phillips 2002).

La principal fuente de energía para el crecimiento bacteriano son los carbohidratos; existen microorganismos fermentadores de carbohidratos estructurales (CE) y fermentadores de carbohidratos no estructurales (CNE) como almidón y azúcares (Russell et al 1992, Jung et al 1992, Hall et al 1998, y Cheeke y Dierenfeld 2010) en este grupo se incluye también la pectina que es un polisacárido no almidonoso estructural (CE) que da estabilidad a las paredes celulares vegetales (Abbott y Boraston 2008) y posee un alto potencial de degradabilidad ruminal (Lashkari y Taghizadeh 2015). Los microorganismos que fermentan celulosa y hemicelulosa (CE) crecen lentamente y utilizan amoníaco como una fuente de nitrógeno (N) para la síntesis de proteína microbiana. Los microorganismos que fermentan almidón, azúcares (CNE) y pectina (CE) crecen más rápidamente que los que fermentan CE y utilizan amoníaco o aminoácidos como fuente de N. Cuando se aumenta la disponibilidad de almidón en el rumen se incrementa la producción de proteína microbiana (Huntington 1997). Las enzimas que degradan los carbohidratos son conocidas como amilasas, producidas por los microorganismos del rumen y tienen la capacidad de hidrolizar enlaces glicosídicos del almidón: α 1-4 de amilosa y α 1-6 de amilopectina (Zeoula y Caldas 2001).

De acuerdo a la naturaleza y velocidad de fermentación de los carbohidratos de la dieta se pueden reducir las emisiones de CH₄ del ganado a través de modificaciones en las proporciones de AGVs sintetizados en el rumen (Johnson y Johnson, 1995). Las dietas ricas en CNE disminuyen la síntesis de acetato y favorecen la producción de propionato; este último compite con el CO₂ por la captura hidrogeniones, necesarios para la síntesis de CH₄ (Beauchemin et al 2008). Es conocido que las dietas que contienen una alta proporción de almidón principalmente porque tienen granos disminuyen la producción de CH₄ en comparación con el forraje (Johnson y Johnson 1995, Beauchemin y McGinn 2005). En general, se ha demostrado que el rendimiento de CH₄ comienza a declinar cuando la suma de grano de maíz o de soja en los suplementos comerciales conforman más de 60% de la dieta (Lovett et al 2003, Sauvant et al 2011). En el trabajo de Aguerre et al (2011) el aumento de la relación forraje:concentrado (F:C) de 47:53 a 68:32 incrementó la emisión de CH₄ de 538 a 648 g / vaca por día. Sin embargo el aumento en la proporción de suplementos comerciales en la dieta por encima de ciertos niveles, podría tener un efecto negativo sobre la digestibilidad de la fibra (Ferraretto et al 2013).

Una de las fuentes energéticas más utilizada en la elaboración de los suplementos para vacunos lecheros es el maíz (MADR 2005), debido a su valor energético, alto contenido en almidón y grasa (3.6%), y su bajo nivel de fibra cruda (2.3%). Adicionalmente, posee una proporción media de amilosa y amilopectina es 25:75 (FEDNA 2010), características que lo convierten en un material muy demandado para la alimentación humana, y en los últimos años, para la producción de biocombustibles, reduciendo su disponibilidad y aumentando el valor asociado con su comercialización. Adicional los altos precios del maíz, han aumentado el interés en una alimentación para rumiantes baja en almidón y alta en forraje o en dietas donde exista una sustitución parcial de grano de maíz con otras materias primas aportantes de energía.

El sorgo es un grano que presenta unos patrones de fermentación ruminal más lentos que el maíz en términos de la desaparición porcentual de materia seca, proteína y almidones (Herrera-Saldana et al 1990). En algunos casos, la mezcla de granos puede proveer un patrón de fermentación ruminal óptimo más que con un grano simple. Las diferencias en la fermentación ruminal del sorgo se deben a la dureza de la matriz

proteína-almidón, la cual es más resistente a la humedad y a la penetración de enzimas que la del maíz (Herrera-Saldana et al 1990, Theurer et al 1999). Por muchos años el sorgo fue considerado de menor valor nutricional que el maíz debido a su menor valor de digestibilidad inclusive cuando es molido o rolado. Sin embargo, dicha digestibilidad no siempre resulta en una disminución en la producción de leche, ni en el desempeño productivo y no se han detectado diferencias en el consumo de materia seca, porcentaje de grasa en la leche y peso corporal debido a la fuente de granos (Mitzner et al 1994, Theurer et al 1999).

La yuca es un tubérculo que tiene una degradabilidad efectiva mayor que el maíz y el sorgo, por su ausencia de pericarpio, endospermo córneo y periférico, la matriz de proteína y posiblemente debido a una menor proporción de amilosa y de lípidos en los gránulos de almidón, lo que disminuye la cantidad de puentes de hidrógeno y aumenta la capacidad de expansión de almidón en el medio acuoso. La estructura química y física del almidón tiene efecto sobre la hidrólisis ruminal, en particular la relación amilopectina: amilosa, así como la distribución de las moléculas y el grado de polimerización (Zeoula y Caldas 2001). De la totalidad de los almidones entre 77% a 81% (Moshi et al 2014), el 79 al 80% corresponde a amilopectina (Onitilo et al 2007), haciéndola una fuente energética ideal para el rumiante en presencia de NNP, debido a que puede generar un incremento en la producción de propionato y una disminución de acetato (Khampa y Wanapat 2006).

El aumento de la producción total de AGVs y lactato puede causar una reducción en el pH ruminal (Ørskov 1986); por ello es importante buscar alimentos que no generen esta reducción que podría causar una acidosis ruminal (Gozho et al 2005). La pulpa cítrica es un subproducto de la extracción industrial del jugo de naranja, tiene un alto potencial de degradabilidad ruminal y puede ser suministrado tal cual, ensilada o deshidratada en ganado lechero y de engorde (Lashkari y Taghizadeh 2015). Presenta un patrón de fermentación ruminal diferente al observado con los granos de cereales, con menor producción de propionato y lactato y mayor de acetato, convirtiéndose en un alimento que tiene menor potencial para propiciar cuadros de acidosis láctica (Schalch et al 2001) por su alto contenido de pectinas (22%) y fibra de alta calidad (23% FDN, digestible en un 89%) (Bampidis y Robinson 2006).

Conclusión

Con la inclusión de suplementos comerciales, de pastos mejorados y de mejores prácticas en el manejo y cosecha de las pasturas se prevé un mayor aporte de nutrientes digestibles, lo que podría aumentar la productividad animal y disminuir así la producción de CH₄ en las lecherías especializadas.

Literatura citada

Abbott D W and Boraston A B 2008 Structural biology of pectin degradation by Enterobacteriaceae. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 72: 301-316. <http://mmbbr.asm.org/content/72/2/301.full.pdf+html>

Aguerre M J, Wattiaux M A, Powell J M, Broderick G A, and Arndt C 2011 Effect of forage-to-concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane, carbon dioxide, and ammonia, lactation performance, and manure excretion. *Journal of dairy science*. 94: 3081-3093. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(11\)00295-5/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(11)00295-5/pdf)

Aguilar O X, Moreno B M, Pabón M L, y Carulla J E 2009 Efecto del consumo de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) o raigrás (*Lolium hybridum*) sobre la concentración de ácido linoléico conjugado y el perfil de ácidos grasos de la grasa láctea. *Livestock Research for Rural Development*. 21: 49.

Alstrup L, Søgaard K, and Weisbjerg M R 2016 Effects of maturity and harvest season of grass-clover silage and of forage-to-concentrate ratio on milk production of dairy

cows. Journal of dairy science. 99: 328-340.
[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(15\)00761-4/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(15)00761-4/pdf)

Archimède H, Eugène M, Marie Magdeleine C, Boval M, Martin C, Morgavi DP, Lecomte P, Doreau M 2011 Comparison of methane production between C3 and C4 grasses and legumes. *Animal Feed Science and Technology*. 166: 59-64.

Arthington J D, and Brown W F 2005 Estimation of feeding value of four tropical forage species at two stages of maturity. *Journal of animal science*. 83:1726-1731.

Aumont G, Caudron I, Saminadin G, and Xandé A 1995 Sources of variation in nutritive values of tropical forages from the Caribbean. *Animal Feed Science and Technology*. 51: 1-13.

Bampidis V A, Robinson P H 2006 Citrus by-products as ruminant feeds: A review. *Animal Feed Science and Technology*. 128: 175-217.
<http://kenanaonline.com/files/0028/28692/Citrus%20by-products%20as%20ruminant%20feeds.pdf>

Bargo F, Muller L D, Kolver y Delahoy J E 2003 Invited Review: production and digestión of supplemented dairy cowa on pasture. *Journal of animal science*. 86: 1-42.

Baruch Z, y Fisher M 1991 Factores climáticos y de competencia que afectan el desarrollo de la planta en el establecimiento de una pastura. *Establecimiento y renovación de pasturas*. CIAT. Cali, Colombia, pp 103-142.

Beauchemin K A, McGinn S M 2005 Methane emissions from feedlot cattle fed barley or corn diets. *Journal of Animal Science*. 83: 653-661

Beauchemin K A, Kreuzer M, O'mara F, and McAllister T A 2008 Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Animal Production Science*. 48: 21-27.

https://www.researchgate.net/publication/248892137_Nutritional_management_for_enteric_methane_abatement_A_review

Bell M, Cullen B, and Eckard R 2011 The production of perennial ryegrass and kikuyu pastures in southeastern Australia under warmer and drier future climate scenarios. In F. Chan, D. Marinova, & R. S. Anderssen (Eds.), *19th International Congress on Modelling and Simulation*, Perth, Australia, pp. 12-16.

<http://www.mssanz.org.au.previewdns.com/modsim2011/B1/bell2.pdf>

Berra G, and Finster L 2002 Emisión de gases de efecto invernadero. IDIA XXI-INTA.

Blaxter K L and Clapperton J L 1965 Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *British journal of nutrition*. 19: 511-522.

http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FBJN%2FBJN19_01%2FS0007114565000466a.pdf&code=bbc1dea5adb7fc4cbe3d4e84592ebdd3

Bodas R, Prieto N, García-González R, Andrés S, Giráldez F J and López S 2012 Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*. 176: 78-93.

Botha P R 2003 Die produksiepotensiaal van oorgesaaide kikoejoeweiding in die gematigde kusgebied van die Suid-Kaap. (PhD thesis) University of the Free State, Bloemfontein, South Africa.

Brask M, Lund P, Hellwing A L, Poulsen M, and Weisbjerg M R 2013 Enteric methane production, digestibility and rumen fermentation in dairy cows fed different forages with and without rapeseed fat supplementation. *Animal Feed Science and Technology*. 184: 67-79.

Carulla J, Cárdenas R, Sánchez N y Riveros C 2004 Valor nutricional de los forrajes más usados en los sistemas de producción lechera especializada de la zona andina colombiana. En: Memorias del V seminario internacional en reproducción y metabolismo en bovinos. Universidad de Caldas, Manizales, noviembre de 2004.

Cheeke P R and Dierenfeld E S 2010 Comparative Animal Nutrition and Metabolism First Edition. USA: CABI, pp 91.

Chilibroste P, Tamminga S, Boer H, Gibb M J, and Den Dikken G 2000 Duration of regrowth of ryegrass (*Lolium perenne*) effects on grazing behavior, intake, rumen fill, and fermentation of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 83: 984-995.

Chung Y H, He M L, McGinn S M, McAllister T A and Beauchemin K A 2011 Linseed suppresses enteric methane emissions from cattle fed barley silage, but not from those fed grass hay. *Animal Feed Science and Technology*. 166: 321-329.

Cobellis G, Trabalza-Marinucci M, Marcotullio M and Yu Z 2016 Evaluation of different essential oils in modulating methane and ammonia production, rumen fermentation, and rumen bacteria *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*. 215: 25-36.

Concejo Regional de la Cadena Láctea de Antioquia. 2001. Acuerdo de competitividad de la cadena láctea de Antioquia. Medellín, pp 75.

Correa H J 2006 Posibles factores nutricionales, alimenticios y metabólicos que limitan el uso del nitrógeno en la síntesis de proteínas lácteas en hatos lecheros de Antioquia. *Livestock Research for Rural Development*. 18 (3).

Correa H J, Pabón M L, Carulla J E 2008 Valor nutricional del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hoechst Ex Chiov.) para la producción de leche en Colombia (Una revisión): I - Composición química y digestibilidad ruminal y posruminal. *Livestock Research for Rural Development*; 20 (4), Article # 59. <http://www.lrrd.org/lrrd20/4/corra20059.htm>

Correa H J 2009 Producción de leche con base en pasturas: el caso de los hatos especializados en Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, Vol 62 (Supl. 1): 1-5. ISSN: 0304-2847.

Correa H J, Jaimes L J, Avellaneda J H, Pabón M L y Carulla J E 2016 Efecto de la edad de rebrote del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) sobre la producción, la calidad de la leche y el balance de nitrógeno en vacas Holstein. *Livestock Research for Rural Development*. Volume 28, Article #47. Retrieved June 08, 2016, from <http://www.lrrd.org/lrrd28/3/jaim28047.html>

De Blas C, Garcia R P, Cambra L M, Torres A G 2008 Contribucion de los rumiantes a las emisiones de gases con efecto invernadero, XXIV Curso de especialización FEDNA. Editorial FEDNA. Madrid, pp 121-150. <http://www.produccion-animal.com.ar/sustentabilidad/89-gases.pdf>

DEFRA 2010 Ruminant nutrition regimes to reduce methane and nitrogen emissions. In: Research Project Final Report. DEFRA, UK, pp 37.

Doré J, and Gouet P 1991 Microbial interactions in the rumen. Rumen microbial metabolism and ruminant digestion. Paris, France, pp 80.

Edwards E J, and Smith S A 2010 Phylogenetic analyses reveal the shady history of C4 grasses. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 107: 2532-2537.

Ehrlich W, Cowan T and Lowe K 2003 Managing Rhodes grass (*Chloris gayana*) cv. Callide to improve diet quality 1. Effects of age of regrowth, strip grazing and mulching. Practical Abstracts from Tropical Grasslands. 37: 33-44. http://www.tropicalgrasslands.asn.au/Tropical%20Grasslands%20Journal%20archive/PDFs/Vol_37_2003/Vol_37_01_03_pp45_52.pdf

Ellis J L, Bannink A, France J, Kebreab E, and Dijkstra J 2010 Evaluation of enteric methane prediction equations for dairy cows used in whole farm models. Global Change Biology. 16: 3246-3256.

FAO (Food and Agricultura Organization) 2009 El estado mundial de la agricultura y la alimentación. FAO. Roma, pp 185.

FEDNA 2010 http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/ma%C3%ADz-nacional. Consultado el 27 Oct 2015, hora: 3:15pm.

Ferraretto L F, Crump P M, and Shaver R D 2013 Effect of cereal grain type and corn grain harvesting and processing methods on intake, digestion, and milk production by dairy cows through a meta-analysis. Journal of dairy science. 96: 533-550. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(12\)00848-X/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(12)00848-X/pdf)

Fukumoto G K and Lee C N 2003 Kikuyugrass for Forage; College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii. LM-5, pp 4. www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/LM-5.pdf

Gaitán S y Pabón J D 2003 Aplicación del modelo NRC 2001 en la caracterización energética y proteica de los pastos kikuyo (*Pennisetum clandestinum*, Hoechst), ryegras (*Lolium perenne*) y falsa poa (*Holcus lanatus*) en un hato lechero del oriente antioqueño; Trabajo de grado de Zootecnia, Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, pp 55.

Gozho G N, Plaizier J C, Krause D O, Kennedy A D, and Wittenberg K M 2005 Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. Journal of Dairy Science. 88: 1399-1403.

Hall M B, Pell A N, and Chase L E 1998 Characteristics of neutral detergent-soluble fiber fermentation by mixed ruminal microbes. Animal Feed Science and Technology. 70: 23-39.

Hammond K J, Burke J L, Koolaard J P, Muetzel S, Pinares-Patiño C S, Waghorn GC 2013 The effect of feed intake on enteric methane emissions from sheep fed fresh

white clover (*Trifolium repens*) and perennial ryegrass (*Lolium perenne*) forages. *Animal Feed Science and Technology*. 179: 121-132.

Harinder P S Makkar 2007 Measuring methane production from ruminants edited by animal production and health section, joint fao/iaea division of nuclear techniques in food and agriculture, international atomic energy agency, pag 6 Vienna, Austria, pp 3-6.

Hellwing A L, and Weisbjerg M R 2010 Effect of digestibility of grass-clover silage and concentrate to forage ratio on methane emission from dairy cows. In *Greenhouse Gases and Animal Agriculture 2010*.

Herrera - Saldana R E, Hubber J T, Poore M H 1990 Dry matter, crude protein and starch degradability of five cereal grains. *Journal of Dairy Science*. 73: 2386-2393.
[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(90\)78922-9/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(90)78922-9/pdf)

Hristov A N, Oh J, Firkins J L, Dijkstra J, Kebreab E, Waghorn G, and Gerber P J 2013 Special topics—Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. *Journal of Animal Science*. 91: 5045-5069.

Huntington G B 1997 Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *Journal of animal science*. 75: 852-867.
<https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/75/3/852>

IPCC 2007 Informe del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el cambio climático. Informe de síntesis.

Janssen P H 2010 Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentationthermodynamics. *Animal Feed Science and Technology*. 160: 1-22.

Johnson K A and Johnson D E 1995 Methane emissions from cattle. *Journal of animal science*. 73: 2483-2492.
<https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/73/8/2483>

Juárez F I, Contreras J L, y Montero M 2001 Tasa de cambios con relación a edad en rendimiento, composición química y digestibilidad de cinco pastos tropicales. En: XIV Reunión Científica Tecnológica Forestal y Agropecuaria, Veracruz 2001.
<http://tiesmexico.cals.cornell.edu/courses/shortcourse1/minisite/pdf/7/TASA%20DE%20CAMBIOS%20CON%20RELACION%20A%20EDAD%20EN%20RENDIMIENTO.pdf>

Jung H G, Valdez F R, Hatfield R D 1992 Cell wall composition and degradability of forage systems following chemical and biological delignification. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 58: 347-55.

Khampa S and Wanapat M 2006 Influences of energy sources and levels supplementation on ruminal fermentation and microbial protein synthesis in dairy steers. *Pakistan Journal of Nutrition*. 5: 294-300. <http://www.pjbs.org/pjonline/fin469.pdf>

Kobayashi Y 2010 Abatement of methane production from ruminants: Trends in manipulation of rumen fermentation. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*. 23: 410–416. <http://ajas.info/upload/pdf/23-55.pdf>

Kumara Mahipala M B P, Krebs G L, McCafferty P and Gunaratne L H 2009 Chemical composition, biological effects of tannin and *in vitro* nutritive value of selected browse species grown in the West Australian Mediterranean environment. *Animal Feed Science and Technology*. 153: 203-215.

Lashkari S, Taghizadeh A 2015 Digestion kinetics of carbohydrate fractions of citrus by-products. *Veterinary Research Forum*. 6: 41-48.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4405684/>

Leng R A 2014 Interactions between microbial consortia in biofilms: a paradigm shift in rumen microbial ecology and enteric methane mitigation. *Animal Production Science*. 54: 519-543.
http://www.publish.csiro.au/view/journals/dsp_journal_fulltext.cfm?nid=72&f=AN13381

Lovett D, Lovell S, Stack L, Callan J, Finlay M, Conolly J, O'Mara F P 2003 Effect of forage/ concentrate ratio and dietary coconut oil level on methane output and performance of finishing beef heifers. *Livestock Production Science*. 84: 135-146.

Lyons R K, Machen R, and Forbes T D A 1996 Why Range Forage Quality Changes; Texas Agricultural Extension Service.
http://oaktrust.library.tamu.edu/bitstream/handle/1969.1/87763/pdf_714.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Marais J P 2001 Factors affecting the nutritive value of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*) - a review. *Tropical grasslands* 35: 65-84.

Márquez F, Sánchez J, Urbano D, y Dávila C 2007 Evaluación de la frecuencia de corte y tipos de fertilización sobre tres genotipos de pasto elefante (*Pennisetum purpureum*). 1. Rendimiento y contenido de proteína. *Zootecnia Tropical*. 25: 253-259.

http://www.sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/ZootecniaTropical/zt2504/pdf/marquez_f.pdf

McAllister T A, Cheng K J, Okine E K, and Mathison G W 1996 Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. Canadian Journal of Animal Science. 76: 231-243. <http://www.nrcresearchpress.com/doi/pdf/10.4141/cjas96-035>

Meeske R, Rothauge A, Van der Merwe G D and Greyling J F 2006 The effect of concentrate supplementation on the productivity of grazing Jersey cows on a pasture based system. South African Journal of Animal Science. 36: 105-110. <http://www.ajol.info/index.php/sajas/article/viewFile/3992/11934>

Merry R J, Lee M R, Davies D R, Dewhurst R J, Moorby J M, Scollan N D and Theodorou M K 2006 Effects of high-sugar ryegrass silage and mixtures with red clover silage on ruminant digestion. 1. *In vitro* and *in vivo* studies of nitrogen utilization. Journal of animal science. 84: 3049-3060.

Mila A y Corredor G 2004 Evolución de la composición botánica de una pradera de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) recuperada mediante escarificación mecánica y fertilización con compost; Revista Corpoica 5: 70-75.

Miles N Thurtell L and Riekert S 2000 Quality of Kikuyu herbage from pastures in the Eastern Cape coastal belt of South Africa. South African Journal of Animal Science. 30: 85-86.

Milford R, and Minson D J 1965 IX International Grass Congress. Sao Paulo, Brazil. pp 815.

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) 2005 La cadena de cereales, alimentos balanceados para animales, avicultura y porcicultura en Colombia. Una mirada

global de su estructura y dinámica: 1991-2005. Observatorio Agrocadenas Colombia – Documento de Trabajo No. 87, pp 95.

Minson D J and Wilson J R 1980 Comparative Digestibility of tropical and temperate forage - a contrast between grasses and legumes. *Journal of the Australian Institute of Agricultural Science*. 46: 247-249.

Minson D J 1990 Forage in Ruminant Nutrition. Academic Press, Inc. New York, pp 179.

Mitzner K C, Owen F G, and Grant R J 1994 Comparison of sorghum and corn grains in early and midlactation diets for dairy cows. *Journal of dairy science*. 77: 1044-1051.
[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(94\)77040-5/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(94)77040-5/pdf)

Montenegro J y Abarca S 2000 Fijación de carbono y emisión de metano y de óxido nítrico en sistemas de producción bovina en Costa Rica. EN: Intensificación de la ganadería en Centroamérica: Beneficios económicos y ambientales. Ed: Pomareda C. y Steinfeld, H. CATIE, FAO, SIDE, pp 151-171.

Moshi A P, Crespo C F, Badshah M, Hosea K M, Mshandete A M, Elisante E, and Mattiasson B 2014 Characterisation and evaluation of a novel feedstock, *Manihot glaziovii*, Muell. Arg, for production of bioenergy carriers: Bioethanol and biogas. *Bioresource technology*. 172: 58-67.

Murray R M, Bryant A M, and Leng R A 1976 Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. *British Journal of Nutrition*. 36: 1-14.
http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FBJN%2FBJN36_01%2FS0007114576000044a.pdf&code=ae3cd228e2030a73a52396b9fb4b0cce

Onitilo M O, Sanni L O, Oyewole O B, and Maziya-Dixon B 2007 Physicochemical and functional properties of sour starches from different cassava varieties. *International Journal of Food Properties*. 10: 607-620.

Ørskov E R 1986 Starch digestion and utilization in ruminants. *Journal of Animal Science*. 63: 1624-1633.

Osorio F 2004 Efecto del manejo alimentario sobre el sistema especializado de producción lechera. En: memorias Seminario Nacional de Lechería Especializada: Bases Nutricionales y su Impacto en la Productividad. Eventos y Asesorías Agropecuarias, Auditorio de la Salud, Hospital General de Medellín, Septiembre 1 y 2 141 - 152.

Owens F N, Secrist D S, Hill W J, and Gill D R 1998 Acidosis in cattle: a review. *Journal of animal science*. 76: 275-286.
<https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/76/1/275>

Pérez-Urria E 2011 Fotosíntesis: Aspectos Básicos. REDUCA (Biología). 2: 1-47.

Pinares-Patiño C S, Waghorn G C, Machmüller A, Vlaming B, Molano G, Cavanagh A, and Clark H 2007 Methane emissions and digestive physiology of non-lactating dairy cows fed pasture forage. *Canadian Journal of Animal Science*. 87: 601-613.

Phillips C 2002 Cattle behaviour and welfare. by Blackwell Science Ltd.

Posada Ochoa S, Cerón J M, Arenas J, Hamedt J F, Álvarez A 2013 Evaluación del establecimiento de ryegrass (*Lolium sp.*) en potreros de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) usando la metodología de cero labranza. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 8: 23-32.

Rico D E, Chouinard P Y, Hassanat F, Benchaar C, and Gervais R 2015 Prediction of enteric methane emissions from Holstein dairy cows fed various forage sources. *Animal*. 10: 203-211.

Rivera B, Vargas J E, Arcila C P, Márquez R, Pérez J F, Toro G, y Martínez J P 1998 Propuesta para la clasificación de los sistemas de producción de leche: el caso de la zona de influencia de Manizales. Documento preparado bajo el Convenio Universidad de Caldas, International Livestock Research Center, Centro Internacional de la Papa, Consorcio para el Desarrollo Sostenible de la Ecorregión Andina. <http://www.condesan.org/publicacion/bgris/colombia/colombia11.html>.

Robertson L J, and Waghorn G C 2002 Dairy industry perspectives o methane emissions and production from cattle fed pasture or total mixed rations in New Zealand. In *PROCEEDINGS-NEW ZEALAND SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION* (Vol. 62, pp. 213-218).

Ruggia Chiesa A P, Kozloski G V, Bonnacarrère Sanchez L M, Lima L D, Oliveira L, Hårter C J, Fiorentini G and Cadorin Jr R L 2008 Age of regrowth as a factor affecting the nutritive value of hay of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*) offered to lambs. *Grass and Forage Science* 63: 193-201.

Ruiz F H, Marrero P, Cruz O, Murillo B and García J L 2008 Agroclimatic factor influences in the basil productivity (*Ocimum basilicum L.*) in an arid area of Baja California Sur, Mexico. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*. 17: 44-47.

Russell J B, O'Connor J D, Fox D G, Van Soest P J, Sniffen C J 1992 A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. Journal of Animal Science. 70: 3551-3561. <http://naldc.nal.usda.gov/download/45/PDF>

Sarmadi B, Rouzbehan Y and Rezaei J 2016 Influences of growth stage and nitrogen fertilizer on chemical composition, phenolics, in situ degradability and *in vitro* ruminal variables in amaranth forage. Animal Feed Science and Technology. 215: 73-84.

Sauvant D, Giger-Reverdin S, Serment A, Broudiscou L 2011 Influences des régimes et e leur fermentation dans le rumen sur la production de méthane par les ruminants. INRA Production Animaux. 24: 433-446.

Schalch F J, Schalch E, Zanetti M A, Brisola M L 2001 Substituição do Milho em Grão Moído pela Polpa Cítrica na Desmama Precoce de Bezerros Leiteiros. Revista Brasileira de Zootecnia.30: 280-285. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982001000100039&script=sci_arttext&tlnq=pt

Schlesinger W H 1997 Biogeochemistry: An Analysis of Global Change. New York: National Academic Press. Mexico.

Soto C, Valencia A, Galvis R D and Correa H J 2005 Efecto de la edad de corte y del nivel de fertilización nitrogenada sobre el valor energético y proteico del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 18: 17-26.

Staerfl S M, Amelchanka S L, Kälber T, Soliva S R, Kreuzer M, Jeitz J O 2012 Effect of feeding dried high-sugar ryegrass ('AberMagic') on methane and urinary nitrogen emissions of primiparous cows. *Livestock Science*. 150: 293-301.

Steinfeld H, Gerber P, Wassenaar T, Castel V, Rosales M y Haan C 2009 La larga sombra del ganado, Problemas ambientales y Opciones. Organización para la Agricultura y la Alimentación de Naciones Unidas. Traducción española de *Livestock's Long Shadow* (2006). <http://www.fao.org/3/a-a0701s.pdf>

Stergiadis S, Zou C, Chen X, Allen M, Wills D and Yan T 2016 Equations to predict methane emissions from cows fed at maintenance energy level in pasture-based systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 220: 8-20.

Stone W C 2004 Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 87: E13-E26. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(04\)70057-0/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(04)70057-0/pdf)

Taiz L, and Zeiger E 2002 *Plant Physiology*. Sunderland, MA.

Taylor S H, Franks P J, Hulme S P, Spriggs E, Christin P A, Edwards E J, Woodward F I, and Osborne C P 2012 Photosynthetic pathway and ecological adaptation explain stomatal trait diversity amongst grasses. *New Phytologist*. 193: 387-396.

Theurer C B, Lozano O, Alio A, Delgado-Elorduy A, Sadik M, Huber J T, Zinn R A 1999 Steam-processed corn and sorghum grain flaked to different densities alter ruminal, small intestinal and total tract digestibility of starch by steers. *Journal of animal science*. 77: 2824-2831. <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/77/10/2824>

Uribe A 2014 Cosas de un país ecuatorial. *Revista Infortambo Andina*.

Uzal E N 2008 Lignificación en cultivos celulares de gimnospermas basales (Tesis Doctoral, Universidade da Coruña). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=20384>

Van Soest P J, Mertens D R, and Deinum B 1978 Preharvest factors influencing quality of conserved forage. *Journal of Animal Science*. 47: 712-720.

Van Soest P J 1982 Nutritional ecology of the ruminant. Ruminant metabolism, nutritional strategies, the cellulolytic fermentation and the chemistry of forages and plant fibers. O & B Books, Inc.

Van Soest P 1993 Evaluación de forrajes y calidad de los alimentos para rumiantes. Vol 20.

Van Soest P J 1994 Nutritional ecology of ruminants. Second ed. Cornell University Press. New York, pp 476.

Villalobos L, y Sánchez J M 2010 Evaluación agronómica y nutricional del pasto ryegrass perenne tetraploide (*Lolium perenne*) producido en lecherías de las zonas altas de Costa Rica. II. Valor nutricional. *Agronomía Costarricense*. 34: 43-52.

Waghorn G C, Woodward S L, Tavendale M, and Clark D A 2006 Inconsistencies in rumen methane production-effects of forage composition and animal genotype. In *International Congress Series* (Vol. 1293, pp. 115-118).

Weimer P J 1998 Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective. *Journal of Animal Science*. 76: 3114-3122.
<http://naldc.nal.usda.gov/download/13671/PDF>

Williams A G, Withers S E, and Joblin K N 1994 The effect of cocultivation with hydrogen-consuming bacteria on xylanolysis by *Ruminococcus flavefaciens*. *Current Microbiology*. 29: 133-138.

Youngner V B, Wright W W and Zimmerman E 1971 Kikuyugrass- Its management and control; California Turfgrass Culture, 21: 1-3.

Zeoula L M, Caldas Neto S F 2001 Recentes avanços em amido na nutrição de vacas leiteiras. In: Simpósio Internacional En Bovinocultura de Leche, 2. Universidade Federal de Lavras, pp.249-284.

CAPITULO II

El siguiente capítulo busca dar cumplimiento al objetivo específico 1 del trabajo de tesis.

Efecto de la edad de corte de los pastos kikuyo (*Cenchrus clandestinum*) y ryegrass (*Lolium perenne L.*) sobre la digestibilidad, perfil de fermentación y producción de metano *in vitro*

R R Noguera¹, C Restrepo^{1,2}, S L Posada¹.

¹Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias-GRICA, Facultad de Ciencias Agrarias,
Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia

² Grupo de investigación Nutri-Solla, Solla S. A, Itagüí, Colombia
rnoguera@icloud.com

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la edad de corte del pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinum*), Ryegrass (*Lolium perenne L.*) y su mezcla sobre la digestibilidad, producción de CH₄ y el perfil de fermentación *in vitro*. Para ello, muestras

de pasto Kikuyo y Ryegrass fueron cosechadas desde el mes de abril hasta mayo de 2014, a los 30, 37 y 44 días de edad e incubadas de manera individual y en mezcla (1:1) en un sistema de digestión *in vitro*. Las variables evaluadas fueron degradación de la materia seca, producción de metano, pérdida de energía bruta en forma de metano y producción de ácidos grasos volátiles. Los datos fueron analizados empleando un análisis de medidas repetidas en el tiempo con arreglo factorial 3 x 3. La degradación de la materia seca, la producción de metano y de ácidos grasos volátiles fue superior en el pasto Ryegrass que las registradas para el pasto Kikuyo y la mezcla Kikuyo – Ryegrass ($p < 0.05$). Los sustratos más digestibles produjeron un mayor volumen de CH_4 y en consecuencia, presentaron una mayor pérdida de energía. Un efecto sinérgico en la mezcla Kikuyo – Ryegrass fue observado, indicando que praderas mixtas en proporciones 50:50 podrían mejorar los parámetros de fermentación ruminal del pasto Kikuyo. El intervalo entre pastoreos ideal para el pasto Ryegrass fue 30 días, para el pasto Kikuyo edades entre los 37 y 44 días parecen ser más convenientes. En las edades antes descritas se obtuvieron las mayores degradaciones de la materia seca (78.5, 67.9 y 68.2%) y producción de ácidos grasos volátiles totales (326, 278 y 277 mmol/L) y a pesar de que también se obtuvo una mayor pérdida energética en forma de metano (192.7, 180.4 y 206.6 cal), esta sería compensada por una mayor disponibilidad de energía para los microorganismos y para el animal derivada de la mayor cantidad de materia orgánica fermentable.

Palabras claves: Energía, gases de efecto invernadero, pasturas, rumiantes.

The effect of the cutting age of Kikuyo (*Cenchrus clandestinum*) and Ryegrass (*Lolium perenne L.*) grasses on the digestibility, the fermentation profile and the methane production *in vitro*.

Summary

The objective of this study was to evaluate the effect of cutting age of Kikuyo grass (*Cenchrus clandestinum*), ryegrass (*Lolium perenne L.*) and its mixture on digestibility, production of CH_4 and profile of *in vitro* fermentation. To do this, samples of Kikuyo grass

and ryegrass were harvested from April to May 2014, at 30, 37 and 44 days old and incubated individually and in a mixture (1: 1) in an *in vitro* digestion system. The variables evaluated were degradation of dry matter, methane production, gross energy lost as methane and volatile fatty acids. Data were analyzed using a repeated measures analysis in time factorial arrangement 3 x 3. The degradation of dry matter production of methane and volatile fatty acids was higher in the Ryegrass pasture than the value registered for the Kikuyu grass and the Ryegrass - Kikuyu mixture ($p < 0.05$). The most digestible substrates produced a greater volume of CH_4 and therefore had a greater loss of energy. A synergistic effect on the mixture Kikuyu - Ryegrass was observed, indicating that mixed prairie in 50:50 proportions could improve ruminal fermentation parameters of Kikuyu grass. The ideal interval for grazing ryegrass pasture was 30 days, Kikuyu grass ages between 37 and 44 days seem to be more convenient. For the described ages, major degradations of dry matter (78.5, 67.9 y 68.2%) and volatile fatty acids (326, 278 y 277 mmol/L) were obtained. Despite of higher energy loss was also obtained in the form of methane (192.7, 180.4 y 206.6 cal), this would be balanced by a greater availability of energy for microorganisms and animals due to the largest amount of fermentable organic matter.

Keywords: Anthropogenic methane, energy, pastures, ruminants.

Introducción

El incremento en las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) y el consecuente calentamiento global es un tema de creciente interés. Entre las implicaciones que conllevan el aumento de las concentraciones de estos gases en la atmósfera se pueden citar el aumento del nivel del mar y la temperatura, el deshielo de los casquetes polares y los glaciares, los cambios en las corrientes oceánicas y en los patrones climáticos, por lo tanto, disminuir o demorar el cambio climático constituye el más serio desafío para la humanidad (Steinfeld et al 2009). En el sector agropecuario, la producción ganadera mundial contribuye con el 18% de las emisiones de GEI, un porcentaje mayor que el

correspondiente a los medios de transporte (FAO 2009). En Colombia, las emisiones anuales de CH₄ de origen entérico corresponden a 1381.9 Gg, lo cual equivale al 1.73% del total mundial de emisiones de este gas, siendo solo superadas en la región por Brasil, México y Argentina (Grupo Unicen 2006).

El metano (CH₄) es un GEI producido a partir de los procesos digestivos normales de los rumiantes, el cual posee un efecto negativo a nivel ambiental y representa una pérdida de la energía consumida, que no puede ser transformada en leche o en carne. En Colombia existe limitada información sobre las emisiones de gas CH₄ como resultado de los procesos digestivos en rumiantes y su relación con el tipo y calidad de pastura consumida. La concentración y tipo de carbohidratos presentes en los forrajes varían grandemente en función del género, la especie, las condiciones de suelo, el ambiente y su manejo. Estos factores convierten a las pasturas en alimentos de composición heterogénea con diferentes tipos y concentraciones de carbohidratos. La interacción de todos estos factores determina la dinámica y los productos de fermentación del forraje en el rumen. El sustrato principal para la metanogénesis es el hidrógeno (H₂), que se genera durante la fermentación de hidratos de carbono de la pared celular de plantas a acetato y butirato (Moss et al 2000). Los forrajes maduros y las plantas C₄ presentan una concentración superior de carbohidratos estructurales (Van Soest 1993, Sun et al 2010) y esto se ha relacionado con una mayor producción de CH₄ (Jayanegara et al 2009). Dietas altas en fibra aumentan la producción de acetato (por liberación de H₂), mientras que las dietas con alto contenido de almidón favorecen la formación propionato (Valadares et al 1999) y por lo tanto, disminuyen la formación de H₂.

La obtención de productos alimenticios de origen animal con bajo nivel de emisiones de CH₄ es un factor de competitividad en el mercado mundial y un diferenciador ambiental y comercial, por tal razón, los esfuerzos en la nutrición de rumiantes están siendo orientados hacia la búsqueda de métodos que reduzcan las emisiones de CH₄ e incrementen la eficiencia en la utilización de la energía. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la edad de corte del pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinum*),

Ryegrass (*Lolium perenne L.*) y su mezcla sobre la digestibilidad, producción de CH₄ y el perfil de fermentación *in vitro*.

Materiales y Métodos

Sustratos

Se utilizaron dos especies forrajeras: Kikuyo (*Cenchrus clandestinum*) y Ryegrass (*Lolium perenne L.*), cuyas edades de corte fueron 30, 37 y 44 días, con las cuales se evaluó el efecto de la edad sobre la digestibilidad, producción de CH₄ y perfil de fermentación. Estos materiales fueron evaluados individualmente por especie y en mezcla en una proporción 1:1 como lo descrito a continuación: RG30 (Ryegrass de 30 días de corte), RG37 (Ryegrass de 37 días de corte), RG44 (Ryegrass de 44 días de corte), KK30 (Kikuyo de 30 días de corte), KK37 (Kikuyo de 37 días de corte), KK44 (Kikuyo de 44 días de corte), KKRG30 (Mezcla 1:1 Kikuyo: Ryegrass de 30 días de corte), KKRG37 (Mezcla 1:1 Kikuyo: Ryegrass de 37 días de corte) y KKRG44 (Mezcla 1:1 Kikuyo: Ryegrass de 44 días de corte).

En una pradera de la hacienda “Betania” ubicada en el municipio de Santa Rosa de Osos (temperatura media: 14° C, humedad relativa 79%, precipitación 2238 mm y 2640 msnm) se tomaron las muestras de forraje representativas. La fertilización de las praderas se hizo a través de riego con porquinaza cruda. La fumigación de los potreros se realizó a los 15 días después del corte de uniformización con un piretroide de última generación para controlar colaria (*Collaria sp*) y lorito verde (*Draeculacephala sp*).

Una vez las praderas alcanzaron la edad estipulada, las muestras se cortaron a una altura de 15 cm del suelo. Los forrajes se secaron en una estufa de ventilación forzada a 65°C por 48 horas y se molieron utilizando un molino estacionario Thomas-Wiley 4, con criba de 1mm. Los forrajes se analizaron para determinar el contenido de materia seca total (MST) (mediante determinación de humedad residual a 105°C/3 horas), proteína bruta (PB), extracto etéreo (EE), cenizas (CZ) con incineración a 550° C de acuerdo con la AOAC (2002), calcio (Ca) por titulación de acuerdo a NTC 302 (1998), fósforo (P) por

espectrofotometría de acuerdo a NTC 4981 (2001) (ambos por prueba colorimétrica), fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA) (Van Soest et al 1991), lignina mediante sometimiento de la FDA a una digestión con ácido sulfúrico al 72% (Van Soest 1967) y energía bruta (EB) en calorímetro adiabático (ISO 9831). La concentración de nitratos fue realizada por fotocolorimetría a una absorbancia de 320 nm como descrito por Bedwell et al (1995) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición química del pasto Kikuyo y Ryegrass en diferentes edades de corte.

Ítem [†]	Kikuyo			Ryegrass		
	30 días	37 días	44 días	30 días	37 días	44 días
MS, %	10.5	12.1	14.0	10.3	12.8	14.3
PB, % de la MS	23.2	20.3	19.9	21.4	20.2	19.6
FDN, % de la MS	62.1	63.5	63.8	52.6	51.7	61.3
FDA, % de la MS	29.8	30.5	30.0	31.4	29.0	33.0
EB, cal/g	4291	4401	4329	4222	4430	4331
EE, % de la MS	1.9	3.1	2.9	3.1	3.2	3.9
Lignina, % de la MS	4.4	4.9	4.5	2.1	2.8	4.1
CZ, % de la MS	10.5	10.6	11.3	12.3	11.3	10.3
CNF	2.3	2.5	2.14	10.6	13.6	4.9
Nitratos, ppm	2390	2307	1977	5651	5072	3725
Ca, % de la MS	0.6	0.6	0.5	0.4	0.8	0.7
P, % de la MS	0.6	0.5	0.4	0.5	0.6	0.5

[†] MS= Materia seca; PB= Proteína bruta; FDN= Fibra detergente neutra; FDA= fibra detergente ácida; EB= Energía bruta, EE= Extracto etéreo, CZ= Cenizas, CNF= carbohidratos no fibrosos (100-(proteína bruta + extracto etéreo + fibra detergente neutro + cenizas)), Ca= Calcio y P= Fósforo.

Técnica in vitro de producción de gases

Preparación del medio de cultivo. El día previo al inicio del experimento, el medio de cultivo fue preparado de acuerdo con las recomendaciones de McDougall (1948): 9.8 g/l de NaHCO_3 , 7 g/l de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.57 g/l de KCl, 0.47 g/l NaCl, 0.12 g/l de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.04 g/l de CaCl_2 . Estos reactivos se disolvieron totalmente en agua destilada, la solución fue saturada con CO_2 y mantenida en estufa de ventilación forzada a 39 °C.

Preparación del inóculo e inoculación. El líquido ruminal fue obtenido de dos vacas Holstein con cánula ruminal permanente, mantenidas bajo condiciones de pastoreo con pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinum*). El contenido ruminal fue extraído manualmente y almacenado en garrafas térmicas previamente calentadas con agua a 40°C para su almacenamiento y transporte.

Preparación de los frascos de incubación. Se utilizaron frascos con capacidad de 100 ml de color ámbar, previamente lavados con abundante agua y secados en la estufa de ventilación forzada a 65°C por 48 horas. En cada frasco de incubación se pesaron 0.5g de sustrato, se adicionaron 45 ml de medio de cultivo y 5 ml de líquido ruminal. Los frascos fueron gaseados con CO_2 , sellados con tapas de caucho e incubados en estufa a 39°C (Williams 2000, Posada y Noguera 2005).

Como control, se utilizaron frascos que contenían medio de cultivo e inóculo pero sin sustrato, con el fin de corregir la producción de gas originada por el gaseado con CO_2 y la presión producida por la fermentación de los microorganismos presentes en el líquido ruminal (Theodorou et al 1994).

Producción de gas y metano. La presión originada por los gases acumulados en la parte superior de los frascos se midió con un transductor de presión (Ashcroft 2089QG - Precision Digital Test Gauges, USA), el valor obtenido en unidades de presión (psi) fue transformado a volumen (ml) mediante el empleo de la siguiente ecuación $Y = -0.1833 + 5.2098X + 0.0598X^2$ (Posada et al 2006). Las lecturas se realizaron a las 12, 24 y

48 horas de incubación, posteriormente se realizó la colecta del gas generado en bolsas plásticas con sellado hermético para la determinación de CH₄ por cromatografía de gases.

Para la determinación de CH₄ se tomó una muestra de 100 µl de gas con ayuda de una jeringa gas tight (Restek®, USA) e inyectada en un cromatógrafo de gases Thermo Trace GC Ultra (Thermo Scientific, USA). Las condiciones cromatográficas fueron: detector FID (300°C), gas de arrastre helio (1 ml/minuto), temperatura del inyector 200 °C en modo split (50:1), horno con temperatura inicial de 30°C y una rampa de 30°C/minuto hasta 200 °C, columna de 30 metros, 0.32 mm y 0.25 µm. Los datos de concentración de metano fueron procesados de acuerdo con la descripción dada por López y Newbold (2007).

Degradación in vitro de la materia seca. Para determinar la degradación de la materia seca (MS) un determinado número de frascos fue retirado en cada horario de incubación y se sometieron a un choque térmico a -20° C por 5 minutos para detener el proceso de degradación. El contenido de cada frasco se filtró inmediatamente a través de crisoles con placa filtrante porosidad #1, de peso conocido utilizando una bomba de vacío. La MS no degradada se determinó mediante el secado del material filtrado a 65°C por 48 horas y por diferencia con la MS incubada se obtuvo la MS degradada de acuerdo a la descripción de Noguera et al (2016).

Determinación del perfil de ácidos grasos volátiles (AGVs). La concentración de AGVs (acético, propiónico y butírico) se determinó en el líquido resultante de la filtración de cada frasco en su respectivo horario de incubación, siguiendo la metodología descrita por Tjardes y Buskirk (2000). Con el objetivo de detener la fermentación de los microorganismos, la muestra líquida se acidificó a un pH de 2.5 con ácido sulfúrico concentrado y luego se centrifugó a 10000 r.p.m y se almacenó a -20° C, para la posterior determinación de ácidos grasos volátiles mediante cromatografía gaseosa, según lo descrito por Noguera et al (2016). Las condiciones cromatográficas fueron: detector FID (300°C), gas de arrastre helio, temperatura del inyector 21 °C en modo split (10:1), horno con temperatura inicial de 68°C y una rampa de 10°C/minuto hasta 140°C, columna RESTEK (FAMEWAX) de 30 metros, 0.32 mm de diámetro y 0.25 µm.

Análisis Estadístico

Para establecer el efecto de los tratamientos sobre las variables respuesta, se realizó un análisis de medidas repetidas en el tiempo con arreglo factorial 3 x 3, utilizando el procedimiento PROC MIXED del paquete estadístico SAS University Edition (SAS.com 2015) teniendo en cuenta un nivel de significancia del 5% ($P < 0.05$). Los efectos fijos del modelo fueron los tratamientos y los horarios de incubación y se consideraron como un efecto aleatorio los diferentes inóculos ruminales.

Resultados y Discusión

En el Cuadro 1 se describe la composición química del pasto Kikuyo y Ryegrass cosechados en tres edades de corte. Como era lo esperado, el contenido de MS en las plantas se incrementó con el avance de la edad. Los porcentajes de MS se ubicaron por debajo del 14%, hecho que podría limitar el consumo de forraje en los animales por un efecto de distención ruminal promovido por el alto contenido de agua en las pasturas.

El pasto Kikuyo como el Ryegrass presentaron altas concentraciones de PB, con valores que flucturaron entre el 20 y 29%. Estos altos contenidos de nitrógeno se ubican dentro del rango considerado normal para este tipo de forrajes en el norte del departamento de Antioquia (Correa et al 2008). Es una práctica habitual en las cuencas lecheras de Colombia, el uso de altas dosis de fertilizantes nitrogenados en las pasturas, hecho que se ve reflejado en sus contenidos de PB y nitratos. Las concentraciones de nitratos encontradas en el pasto Ryegrass fueron en promedio 54% superiores a las registradas en el pasto Kikuyo. Sin embargo, estas concentraciones no representan riesgo alguno para la salud animal (Ruiz-Buitrago 2014).

A pesar de que las concentraciones de nitratos registradas en este estudio no representan riesgos de intoxicación para los animales, Marais et al (1988) señalan que nitritos y nitratos pueden afectar más sutilmente la producción animal a través de efectos indirectos perjudiciales en los organismos del rumen, principalmente por causar efectos

tóxicos en los organismos celulolíticos, disminuyendo la digestibilidad del forraje. Estos mismos autores sugieren que la reducción en la digestibilidad puede ser el resultado de la acumulación de nitritos que inhiben el sistema transportador de electrones de algunas especies de microorganismos y limitan la generación de ATP y su crecimiento. Es importante resaltar que la concentración de nitratos en la dieta puede afectar el desempeño animal sin que este último presente signos aparentes de intoxicación.

La FDN determinada en el pasto Kikuyo tendió a mantenerse constante a través del tiempo y fue superior a la encontrada para el pasto Ryegrass, en donde esta misma fracción se incrementó con el avance de la edad de la planta (Cuadro 1). Diferentes autores (Gaitán y Pabón 2003, Lee et al 2002, Smit et al 2005, Taweel et al 2005) reportan que el pasto Kikuyo presenta valores de FDN más altos que los Ryegrasses. Correa et al (2008) en una revisión de literatura sobre el valor nutricional del pasto Kikuyo en Colombia reportan valores máximos y mínimos de FDN de 66.9 y 51.7%, respectivamente (n=36).

Los porcentajes de degradación de la MS de los forrajes evaluados se describen en el Cuadro 2. después de 48 horas de incubación la mayor degradación de la MS se observó en el pasto Ryegrass en todas las edades de corte cuando fue comparado con el pasto Kikuyo ($p < 0.05$). La mezcla Kikuyo-Ryegrass mostró un efecto sinérgico sobre la degradación, donde se evidenció que la mezcla tuvo una digestibilidad de la MS superior a la registrada para el Kikuyo y menor a la observada en el Ryegrass. La literatura claramente establece que la digestibilidad del forraje disminuye con el avance de la edad; este hecho fue evidenciado en el pasto Ryegrass, sin embargo, para el pasto Kikuyo la degradación a las 48 horas de incubación fue superior en la edad de 44 días que a los 30 días de rebrote ($p < 0.05$).

Cuadro 2. Efecto de la edad de corte y la especie sobre la degradación (%) *in vitro* de la materia seca.

Tratamiento †	Tiempo de incubación (horas)		
	12	24	48

	Media	DE	Media	DE	Media	DE
RG30	60.6 ^{aA}	0.3	73.5 ^{aA}	5.8	78.5 ^{abA}	2.5
RG37	56.2 ^{abA}	4	76.0 ^{aA}	1.8	80.4 ^{aA}	2.6
RG44	52.7 ^{bA}	1.9	67.5 ^{bA}	2	74.9 ^{bA}	2.5
KK30	31.4 ^{bC}	0.4	40.8 ^{cC}	6	61.5 ^{bC}	1.5
KK37	38.5 ^{aC}	2.1	52.8 ^{bC}	5.2	67.9 ^{aC}	3.3
KK44	39.9 ^{aC}	0.9	58.6 ^{aB}	2.2	68.2 ^{aB}	1.1
KKRG30	47.0 ^{aB}	0.6	57.7 ^{bB}	3.6	70.5 ^{aB}	1.2
KKRG37	50.0 ^{aB}	3.1	62.8 ^{aB}	4.6	74.2 ^{aB}	0.3
KKRG44	46.7 ^{aB}	0.6	63.3 ^{aA}	1.9	73.2 ^{aA}	1.5

[†] RG30, RG37 y RG44: Ryegrass de 30, 37 y 44 días de corte; KK30, KK37 y KK44: Kikuyo de 30, 37 y 44 días de corte; KKR30, KKR37 y KKR44: Mezcla 1:1 Kikuyo: Ryegrass de 30, 37 y 44 días de corte.

Letras minúsculas distintas en una misma columna indican diferencias estadísticas significativas entre edades para una misma especie ($p < 0.05$). Letras mayúsculas distintas en una misma columna indican diferencias estadísticas significativas entre especies para una misma edad de corte ($p < 0.05$); DE: Desviación estándar.

La menor degradación observada en el pasto Kikuyo está asociada con su mayor contenido de FDN y lignina (Cuadro 1). Minson y Wilson (1980) reportan que la menor calidad de los forrajes tropicales es debida generalmente a una mayor proporción de pared celular y a su mayor grado de lignificación.

Con el avance de la edad, se verificó una caída en la degradación de la MS del pasto Ryegrass, originada por el incremento en las concentraciones de FDN y lignina con la madurez de la planta (Cuadro 2). Este no fue el caso del pasto Kikuyo, cuyas concentraciones de FDN variaron estrechamente a través del tiempo. La pérdida de valor nutricional con el avance de la edad varía entre especies. Bajo iguales condiciones de crecimiento, Arroyo-Aguilu et al (1975) evaluaron 5 especies de gramíneas tropicales con intervalos de corte de 30 y 60 días, encontrando que el orden en el cual reducen su

calidad nutricional fue *Penisetum purpureum* > *Brachiaria ruziziensis* > *Cynodon nlemfluensis* > *Megathyrsus maximus* > *Digitaria decumbens*. Variaciones en la relación hoja : tallo y una reducción en la calidad nutricional de estos últimos, podrían ser los responsables de las diferencias observadas entre especies en la degradación de la MS.

La edad de corte tuvo un efecto significativo sobre la producción de CH₄ *in vitro* (Cuadro 3). Forrajes con 37 y 44 días de rebrote produjeron mayor volumen de CH₄ (p<0.05) que aquellos cortados a los 30 días de edad en todos los horarios de incubación evaluados.

Cuadro 3. Efecto de la edad de corte y la especie forrajera sobre la producción de metano *in vitro* (ml/g de MS degradada).

Tratamiento †	Tiempo de incubación (horas)					
	12		24		48	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE
RG30	15.3 ^{bA}	0.6	31.0 ^{aA}	3.8	35.8 ^{bA}	3.3
RG37	25.5 ^{aA}	2.1	38.2 ^{aA}	2.8	48.2 ^{aA}	2.2
RG44	26.2 ^{aA}	5.3	32.2 ^{aA}	12.5	42.7 ^{abA}	8.7
KK30	0.24 ^{bB}	0.1	4.83 ^{bC}	1	22.1 ^{bB}	13
KK37	8.68 ^{aB}	1.8	23.2 ^{aB}	3.9	35.9 ^{aB}	0.3
KK44	9.81 ^{aB}	0.9	27.6 ^{aA}	3.1	41.8 ^{aA}	1.9
KKRG30	7.44 ^{bB}	1.1	19.8 ^{bB}	4.1	30.4 ^{bA}	4.4
KKRG37	20.8 ^{aA}	2	38.4 ^{aA}	1.9	46.1 ^{aA}	2.5
KKRG44	20.9 ^{aA}	1	35.5 ^{aA}	1.3	43.9 ^{aA}	0.3

† RG30, RG37 y RG44: Ryegrass de 30, 37 y 44 días de corte; KK30, KK37 y KK44: Kikuyo de 30, 37 y 44 días de corte; KKR30, KKR37 y KKR44: Mezcla 1:1 Kikuyo: Ryegrass de 30, 37 y 44 días de corte.

Letras minúsculas distintas en una misma columna indican diferencias estadísticas significativas entre edades para una misma especie (p<0.05). Letras mayúsculas distintas en una misma columna

indican diferencias estadísticas significativas entre especies para una misma edad de corte ($p < 0.05$); DE: Desviación estándar.

Al comparar la producción de CH₄ entre diferentes especies a una misma edad de corte, pudo observarse que el Ryegrass y la mezcla Kikuyo – Ryegrass a los 30 días produjo mayor volumen de CH₄ que el Kikuyo en todos los horarios de medición. A los 37 días de rebrote el volumen de CH₄ fue significativamente superior en el Ryegrass cuando fue comparado con el Kikuyo ($p < 0.05$), y resultó equivalente al CH₄ producido en la mezcla Kikuyo – Ryegrass ($p > 0.05$). Las pasturas con 44 días de rebrote a las 24 y 48 horas de incubación produjeron volúmenes semejantes de CH₄ ($p > 0.05$).

El CH₄ producido aumentó en función de la MS degradada, indicando que sustratos más digestibles producen un mayor volumen de gas y en consecuencia un mayor volumen de CH₄. Con 44 días de edad, los contenidos de FDN, lignina y degradación de la MS fueron muy semejantes entre las especies evaluadas, lo que explicaría la ausencia de diferencias estadísticas para la producción de CH₄ a esta edad de corte. Bhatta et al (2007) comparando técnicas *in vivo* e *in vitro* en cuanto a su capacidad para medir la producción de CH₄ evaluaron 5 dietas con composición variable y encontraron que los sustratos con mayores contenidos de FDN presentaron lentas tasas de degradación y menores producciones de CH₄ tanto *in vivo* como *in vitro*. Por su parte, Klevenhusen et al (2008) encontraron un incremento en la producción de CH₄ conforme la participación del almidón en la dieta de vacas lecheras se incrementó, hecho explicado por el aumento en la cantidad de sustrato fermentable con dietas de mejor calidad.

En este estudio, los sustratos más digestibles produjeron un mayor volumen de CH₄ y en consecuencia, presentaron una mayor pérdida de energía en forma de este gas que los sustratos menos digestibles (Cuadro 4). Sin embargo, es necesario resaltar que sustratos más fermentables aportan una mayor cantidad de energía digestible que estaría disponible para las funciones productivas del animal (producción de carne o leche). En estas condiciones, la mayor producción aparente de CH₄ en dietas más digestibles sería diluida por la unidad de producto obtenida. Lo anterior también fue enunciado por Vargas

(2013) quién mencionó que la producción de AGV y de CH₄ en el rumen o en un sistema *in vitro* están estrechamente asociados a la fermentación de carbohidratos.

Cuadro 4. Pérdida de energía (cal) en forma de metano a partir de la energía bruta incubada.

Tratamiento †	Tiempo de incubación (horas)					
	12		24		48	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE
RG30	67 ^{bA}	2.5	163.5 ^{cA}	8.7	192.7 ^{cA}	7.92
RG37	95.9 ^{aA}	2.6	209.3 ^{aA}	10.5	279.1 ^{aA}	10.7
RG44	86.8 ^{aA}	1.5	191.3 ^{bA}	19.4	257.2 ^{bA}	6
KK30	0.5 ^{bC}	0.3	18.2 ^{cC}	0.4	45.3 ^{cC}	15.4
KK37	27.5 ^{aC}	2.0	80 ^{bC}	10.1	180.4 ^{bC}	6.1
KK44	28.3 ^{aC}	3.1	116.3 ^{aC}	8.8	206.6 ^{aC}	5.3
KKRG30	25.3 ^{bB}	3.4	95.2 ^{bB}	6.8	141.5 ^{cB}	1.5
KKRG37	75.1 ^{aB}	11.5	163.3 ^{aB}	4.4	246.5 ^{aB}	12.3
KKRG44	70.4 ^{aB}	2.2	163.8 ^{aB}	1.1	229.6 ^{bB}	3.6

† RG30, RG37 y RG44: Ryegrass de 30, 37 y 44 días de corte; KK30, KK37 y KK44: Kikuyo de 30, 37 y 44 días de corte; KKR30, KKR37 y KKR44: Mezcla 1:1 Kikuyo: Ryegrass de 30, 37 y 44 días de corte.

Letras minúsculas distintas en una misma columna indican diferencias estadísticas significativas entre edades para una misma especie ($p < 0.05$). Letras mayúsculas distintas en una misma columna indican diferencias estadísticas significativas entre especies para una misma edad de corte ($p < 0.05$); DE: Desviación estándar.

La pérdida de energía en forma de CH₄ (cal) fue afectada por la edad de corte de los forrajes. En el caso del Ryegrass después de 48 horas de incubación, los forrajes con 37 y 44 días de rebrote tuvieron un incremento medio del 27.5% en las pérdidas de energía en forma de CH₄ con respecto al forraje de 30 días de edad. El incremento en las pérdidas

fue superior para el Kikuyo, los forrajes con edades 37 y 44 días presentaron en promedio un incremento del 76% en las pérdidas energéticas en forma de CH₄ comparadas con las pérdidas registradas para este forraje a los 30 días de edad.

Al comparar las diferentes especies a una misma edad de corte, el Ryegrass presentó las mayores pérdidas energéticas en forma de CH₄ en todos los horarios de incubación ($p < 0.05$). La energía del alimento perdida como CH₄ fue menor para el Kikuyo e intermedia para la mezcla Kikuyo – Ryegrass en todos los horarios de incubación evaluados (Cuadro 4).

La concentración de ácidos grasos volátiles (AGVs) expresada en mmol/litro se describe en el Cuadro 5. La producción de AGVs fue dependiente del tiempo de incubación ($p < 0.05$) en todas las especies en estudio. En el caso del Ryegrass la producción de ácido acético, propiónico y butírico no fue influenciada por la edad de corte del forraje después de 48 horas de incubación. En este mismo horario (48 horas) la concentración de AGVs fue equivalente para el Kikuyo de 37 y 44 días de edad ($p > 0.05$). El mismo comportamiento fue evidenciado para la mezcla Kikuyo – Ryegrass (Cuadro 5).

De una manera general, el Ryegrass de 30 días de edad produjo una mayor proporción de AGVs que sus homólogos KK30 y KKR30 ($p < 0.05$). Con 37 días de edad, el Ryegrass produjo una mayor cantidad de AGVs que el Kikuyo y la mezcla Kikuyo – Ryegrass ($p < 0.05$) durante las primeras 24 horas de fermentación, sin embargo, esas diferencias desaparecieron entre tratamientos después de las 48 horas de incubación (Cuadro 5).

A los 44 días de edad, la producción de ácido acético y propiónico fue mayor para el Ryegrass en las primeras 24 horas de incubación ($p < 0.05$); transcurrido este tiempo las diferencias entre tratamientos solo son numéricas. Para esta misma edad, la producción de ácido butírico observada en el Kikuyo y en la mezcla Kikuyo – Ryegrass fue siempre menor a la registrada para el Ryegrass ($p < 0.05$).

La producción de ácidos grasos volátiles fue consistente con la degradación de la MS y producción de CH₄ registrada (Cuadro 5). Los forrajes con mayor degradación de la MS produjeron mayores proporciones de ácidos acético y propiónico indicando una fuerte asociación entre la producción de AGVs y la degradación de la MS. Este hecho es confirmado por Meale et al (2012) quienes evaluando la producción de CH₄ *in vitro* en diferentes forrajes encontraron que las pasturas con mayor degradación de la MS presentaron una mayor producción de gas, mayor proporción de AGVs y propionato y una menor relación acetato: propionato.

Es aceptado que el tipo de carbohidrato presente en el forraje determina la producción de CH₄ a través de mudanzas en el ambiente ruminal y en las proporciones y tipos de microorganismos presentes en el rumen. Este hecho fue claramente evidenciado en el pasto Ryegrass cuyo contenido de FDN y lignina se incrementaron con la madurez de la planta reduciendo su degradación y la producción de CH₄ (Cuadros 2 y 3). El pasto Kikuyo parece mantener su valor nutricional a través del tiempo; moderadas variaciones numéricas en los contenidos de FDN, FDA, lignina y proteína fueron registrados (Cuadro 1).

Cuadro 5. Efecto de la edad de corte y la especie forrajera sobre la concentración de ácidos grasos volátiles (mmol/L).

Ítem †	Tiempo (horas)	Tratamientos																	
		RG30		RG37		RG44		KK30		KK37		KK44		KKRG30		KKRG37		KKRG44	
		Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
Acético	12	130.6 ^{aA}	0.2	108.5 ^{abA}	3.9	90.6 ^{bA}	0.9	89.4 ^{aB}	11	108 ^{aA}	6.5	89.3 ^{aA}	7.1	98 ^{aB}	0.4	112.5 ^{aA}	8.9	90.2 ^{aA}	0.8
	24	163.7 ^{bA}	27.7	185.3 ^{bA}	0.5	223.4 ^{aA}	0.6	114.4 ^{bB}	13.6	153.5 ^{aB}	22.4	164.2 ^{aB}	5.9	155.9 ^{aA}	12.1	178 ^{aAB}	8.3	167.9 ^{aB}	3.1
	48	248.1 ^{aA}	19.5	225.8 ^{aA}	20.2	234.8 ^{aA}	15.8	134.8 ^{bC}	26.1	211.1 ^{aA}	24.4	212.7 ^{aA}	13.8	178.3 ^{bB}	21.7	208.8 ^{aA}	6.1	227.8 ^{aA}	15.6
mol/100 moles	48	76.2		76.5		77.5		78.9		76.1		76.7		77.6		77.7		77.3	
Propiónico	12	21.5 ^{aA}	0.7	18.9 ^{abA}	1.4	12.7 ^{bA}	0.2	11.2 ^{aB}	1.5	14.2 ^{aA}	0.5	10.6 ^{aA}	0.5	14.2 ^{aAB}	0.8	15.9 ^{aA}	1	12.2 ^{aA}	0.2
	24	20.7 ^{cB}	5.8	39.3 ^{bA}	6	50 ^{aA}	3.7	13.9 ^{bB}	2.7	31.7 ^{aB}	6.1	31.6 ^{aB}	0.5	33.1 ^{aA}	3.7	34.6 ^{aAB}	2.5	31 ^{aB}	0.9
	48	60.1 ^{aA}	5.7	53 ^{aA}	7.1	52.6 ^{aA}	4.7	26.7 ^{bC}	10.9	50.3 ^{aA}	4.1	51.3 ^{aA}	3.3	39.7 ^{bB}	8.6	46 ^{abA}	2.6	52.5 ^{aA}	0.7
mol/100 moles	48	18.4		18		17.4		15.6		18.1		18.5		17.3		17.1		17.8	
Butírico	12	8.9 ^{aA}	0	9.8 ^{aA}	0.1	9.2 ^{aA}	1.2	7.2 ^{aA}	0.5	8.4 ^{aA}	0	7.3 ^{aB}	0.3	7.8 ^{abA}	0.2	9 ^{aA}	0	6.8 ^{bB}	1.9
	24	11.3 ^{bA}	1.4	13 ^{bA}	0.7	15.7 ^{aA}	1.2	7.6 ^{bB}	0.3	10.8 ^{aB}	0.6	10.5 ^{aB}	0.8	10.8 ^{aA}	0.3	11.9 ^{aAB}	0.5	11.2 ^{aB}	0
	48	17.6 ^{aA}	1.6	16.2 ^{aA}	1	15.7 ^{aA}	1.3	9.3 ^{cC}	1.2	16.1 ^{aA}	3.2	13.2 ^{bB}	0.4	11.8 ^{bB}	0.4	14 ^{aB}	0.4	14.3 ^{aB}	0.8
mol/100 moles	48	5.40		5.49		5.18		5.44		5.80		4.76		5.13		5.21		4.85	
Total AGVs	48	326		295		303		171		278		277		230		269		295	

† RG30, RG37 y RG44: Ryegrass de 30, 37 y 44 días de corte; KK30, KK37 y KK44: Kikuyo de 30, 37 y 44 días de corte; KKR30, KKR37 y KKR44: Mezcla 1:1 Kikuyo: Ryegrass de 30, 37 y 44 días de corte.

Letras minúsculas distintas en una misma fila indican diferencias estadísticas significativas entre edades para una misma especie ($p < 0.05$). Letras mayúsculas distintas en una misma fila indican diferencias estadísticas significativas entre especies para una misma edad de corte ($p < 0.05$); DE: Desviación estándar.

Conclusión

En este trabajo, el intervalo entre pastoreo más apropiado para el pasto Ryegrass fue de 30 días y para el pasto Kikuyo entre los 37 y 44 días, debido a que en las edades antes descritas se obtuvieron las mayores degradaciones (78.5, 67.9 y 68.2%) de la MS y producción total de AGVs (326, 278 y 277 mmol/L) y a pesar de que también se obtuvo una mayor pérdida energética en forma de CH₄ (192.7, 180.4 y 206.6 cal), esta sería compensada por una mayor disponibilidad de energía para los microorganismos y el animal oriunda de la mayor cantidad de materia orgánica fermentable.

Agradecimientos

Los autores agradecen al personal de la granja experimental Betania y a la empresa Solla S.A, y al departamento de Ciencia, Tecnología e Innovación COLCIENCIAS por el apoyo para el desarrollo de esta investigación a través del proyecto “Evaluación *in vitro* e *in vivo* de diversas estrategias nutricionales para mitigar las emisiones de metano y su impacto productivo, reproductivo y económico en ganadería de leche especializada en el norte de Antioquia” (Código 1115+569-33874).

Literatura Citada

AOAC (Association of Official Analytical Chemists International) 2002 Official Methods of Analysis, 15th ed. AOAC, Arlington, VA, USA.

Arroyo J A, Tessemas S, McDowell R E, Van Soest P J and Randell P F 1975 Chemical composition and *in vitro* digestibility of five heavily fertilized grasses in Puerto Rico. Journal of Agriculture of the University Puerto Rico. 59: 186-198.

Bhatta R, Tajima K, Takusari N, Higuchi K, Enishi O and Kurihara M 2007 Comparison of *in vivo* and *in vitro* techniques for methane production from ruminant diets. Asian

Australasian Journal of Animal Sciences. 20: 1049-1056.
<http://www.ajas.info/upload/pdf/20-148.pdf>

Bedwell C L, Hamar D W and Hoesterey M L, Sonderman J P and Odde K G 1995 Comparison of four methods for forage nitrate analysis. Journal Veterinary Diagnostic Investigation. 7: 527-530. <http://vdi.sagepub.com/content/7/4/527.full.pdf+html>

Correa H J, Pabón M y Carulla J E 2008 Valor nutricional del pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hoechst Ex Chiov.) para la producción de leche en Colombia (Una revisión): II - Contenido de energía, consumo, producción y eficiencia nutricional. Livestock Research for Rural Development. 24: 4.
<http://www.lrrd.org/lrrd20/4/corr20061.htm>

FAO (Food and Agricultura Organization) 2009 El estado mundial de la agricultura y la alimentación. FAO. Roma, pp 185.

Gaitán S, y Pabón J D 2003 Aplicación del modelo NRC 2001 en la caracterización energética y proteica de los pastos kikuyo (*Pennisetum clandestinum*, Hoechst), ryegras (*Lolium perenne*) y falsa poa (*Holcus lanatus*) en un hato lechero del oriente antioqueño. Trabajo de grado de Zootecnia, Departamento de Producción Animal. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, pp 55.

Grupo Unicen 2006 Mitigación de emisiones a través de la reducción de las emisiones de metano entérico. Informe Final. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Argentina, pp 206.

ISO 9831:1998 2013 Animal feeding stuffs, animal products, and faeces or urine - Determination of gross calorific value - Bomb calorimeter method.

Jayanegara A, Togtokhbayar N, Makkar H P S and Becker K 2009 Tannins determined by various methods as predictors of methane production reduction potential of plants by

an *in vitro* rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology. 150: 230-237.
http://anuragaja.staff.ipb.ac.id/files/2011/01/Jayanegara_2009_AFST_Tannin-method-CH4.pdf

Klevenhusen F, Bernasconi S M, Kreuzer M and Soliva C R 2008 The methanogenic potential and C-isotope fractionation of different diet types represented by either C-3 or C-4 plants as evaluated in *vitro* and in dairy cows. Australian Journal of Experimental Agriculture. 48: 119-123.
<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.555.7161&rep=rep1&type=pdf>

Lee M R F, Brooks A E, Moorby J M, Humphreys M O, Theodorou M K, MacRae J C and Scollan N D 2002 In *vitro* investigation into the nutritive value of *Lolium perenne* bred for an elevated concentration of water-soluble carbohydrate and the added effect of sample processing: freeze-dried and ground vs. frozen and thawed. Animal Research. 51: 269-277. <http://animres.edpsciences.org/articles/animres/pdf/2002/04/01.pdf>

López S and Newbold C J 2007 Analysis of Methane. Chapter 1 in: Measuring Methane Production from Ruminants. Editors Makkar H P, Vercoe P E. Dordrecht, The Netherlands: Springer.

Marais J P, Therion J J, Mackie R I, Kistner A and Dennison C 1988 Effect of nitrate and its reduction products on the growth and activity of the rumen microbial population. British Journal of Nutrition. 59: 301-313.
http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FBJN%2FBJN59_02%2FS0007114588000388a.pdf&code=628ddb7f4b65abc83395fd739ff44a29

Meale S J, Chaves A V, Baah J and McAllister T A 2012 Methane production of different forages in *in vitro* ruminal fermentation. Asian-Australasian journal of animal sciences. 25: 86-91. <http://www.ajas.info/upload/pdf/25-12.pdf>

Minson D J and Wilson J R 1980 Comparative Digestibility of tropical and temperate forage - a contrast between grasses and legumes. Journal of the Australian Institute of Agricultural Science. 46: 247-249.

McDougall E I 1948 Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. Biochemical Journal. 43, pp 99.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1274641/pdf/biochemj00946-0114.pdf>

Moss A R, Jouany J P and Newbold J 2000 Methane production by ruminants: its contribution to global warming. In Annales de zootechnie. 49: 231-253.
<http://www.bashaar.org.il/files/125122005103109.pdf>

Noguera R R, Ramírez J F y Posada S L 2016 Efecto de la concentración de proteína cruda en suplementos para vacas lecheras sobre la degradación de la materia seca *in vitro*. Livestock Research for Rural Development. 28, Article #148.
www.lrrd.org/lrrd28/8/nogu28148.html

Posada Ochoa S L Noguera R R 2005 Técnica *in vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. Livestock Research for Rural Development. 17: 12-19.

Posada Ochoa S L, Rosero Noguera J R, Bolivar Vergara D M 2006 Relación entre presión y volumen para la implementación de la técnica *in vitro* de producción de gases en Medellín, Colombia. En: Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias. 19: 407-414.
<http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v19n4/v19n4a06>

Ruiz Buitrago J D, Villar Argai D, Correa H J, Roldán M y Ríos J C 2014 Niveles de nitrato en pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hochst. ex Chiov.) Morrone) fertilizado con urea en el antiplano de Antioquia, Colombia. Revista CES Medicina Veterinaria y

Zootecnia.

9:

52-57.

<http://bdigital.ces.edu.co:8080/repositorio/bitstream/10946/3197/1/4.pdf>

Sas.com 2015 Free Statistical Software, SAS University Edition. [online] Available at: http://www.sas.com/en_us/software/university-edition.html [Accessed 30 Jul. 2015].

Smit H J, Tas B M, Taweel H Z, Tamminga S and Elgersma A 2005 Effects of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars on herbage production, nutritional quality and herbage intake of grazing dairy cows. *Grass and Forage Science*. 60: 297-309.

Steinfeld H, Gerber P, Wassenaar T, Castel V, Rosales M y Haan C 2009 La larga sombra del ganado, Problemas ambientales y Opciones. Organización para la Agricultura y la Alimentación de Naciones Unidas. Traducción española de *Livestock's Long Shadow* (2006). <http://www.fao.org/3/a-a0701s.pdf>

Sun X Z, Waghorn G C and Clark H 2010 Cultivar and age of regrowth effects on physical, chemical and in sacco degradation kinetics of vegetative perennial ryegrass (*Lolium perenne* L). *Animal Feed Science and Technology*. 155: 172-185.

Taweel H Z, Tas B M, Smit H J, Elgersma A, Dijkstra J and Tamminga S 2005 Effects of feeding perennial ryegrass with an elevated concentration of water-soluble carbohydrates on intake, rumen function and performance of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*. 121: 243-256. http://remugants.cat/8/upload/llet_pastura_raigra_s_i_produccia_wageningen_2004.pdf#page=61

Theodorou M K, Williams B A, Dhanoa M S, McAllan A B and France J 1994 A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 48: 185-197.

Tjardes K E. and Buskirk D D 2000 Brown midrib-3 corn silage improves digestion but not performance of growing beef steers. *Journal Animal Science*. 78: 2957-2965. <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/78/11/2957>

Valadares R F D, Broderick G A, Valadares Filho S C and Clayton M K 1999 Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *Journal of Dairy Science*. 82: 2686-2696. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(99\)75525-6/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(99)75525-6/pdf)

Van Soest P J 1967 Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. *Journal Animal Science*. 26:119-128.

Van Soest P J, Robertson J B, Lewis B A 1991 Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starchpolysaccharides (NSP) in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74: 3583-3597. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(91\)78551-2/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(91)78551-2/pdf)

Van Soest P J 1993 Evaluación de forrajes y calidad de los alimentos para rumiantes. Vol 20.

Van Soest P J 1994 Nutritional ecology of ruminants. Second ed. Cornell University Press. New York, pp 476.

Vargas Martínez J D J 2013 Producción de metano *in vitro* e *in vivo* de gramíneas y leguminosas presentes en sistemas de producción bovina en trópico alto colombiano (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia). Capítulo 2: 39-59.

Williams B A 2000 Cumulative gas-production techniques for forage evaluation. In: Givens D I, Owen E, Omed H M and Axford R F E (editors). Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. Wallingford (UK). CAB International, pp 475.

CAPITULO III

El siguiente capítulo busca dar cumplimiento al objetivo específico 2 del trabajo de tesis. Este manuscrito fue sometido a la revista Livestock Research for Rural Development el día 07/jun/2016 y fue aceptado <http://www.lrrd.org/public-lrrd/proofs/lrrd2810/rest28188.html>

Efecto de la sustitución energética del maíz (*Zea mays*) en dietas para rumiantes sobre la producción de metano *in vitro* y perfil de fermentación.

C Restrepo^{1,2}, R R Noguera¹, S L Posada¹.

¹Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias-GRICA, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia - UdeA, AA 1226, Medellín, Colombia ²

Solla S. A, Carrera 42 No. 33- 80 Itagüí, Colombia

catalinarpoa@gmail.com

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de dietas basadas en forraje y alternativas de suplemento comercial que pueden ser usadas en lechería especializada. Se trabajó con 4 suplementos: en el primero, la materia prima principal para el aporte de energía, fue el grano de maíz (*Zea mays*) (MZ), los demás suplementos se obtuvieron por la sustitución del 50% de TDN aportado por el grano de maíz por otras materias primas como Sorgo grano (*Sorghum vulgare*) (SG), yuca raíz (*Manihot esculenta*) (YC) y pulpa

cítrica de naranja deshidratada (*Citrus sinensis*) (PCD). Los tratamientos fueron mezclas en una proporción 60:40 de forraje (F) (*Cenchrus clandestinum* de 37 días de rebrote) con los suplementos, quedando 4 tratamientos FMZ, FSG, FYC y FPCD. Las variables evaluadas fueron degradación de materia seca (DMS), producción de metano (CH₄), pérdidas energéticas por CH₄ y perfil de fermentación, a través de la técnica *in vitro* de producción de gases (TIVPG). Los horarios de incubación evaluados fueron 6, 12 y 24 horas. Las variables fueron analizadas a través de un diseño de medidas repetidas en el tiempo. La comparación de medias se realizó con un nivel de significancia del 5%, mediante la prueba t. Se observó mayor DMS a las 24 horas para el tratamiento FMZ (65.5%) y menor para FPCD (60.6%), los valores de digestibilidad para FSG y FY fueron intermedios (62.7 y 62.6%). La producción de ácido acético y butírico no varió en ningún horario ni tratamiento. De las dietas evaluadas, los mejores resultados para las variables analizadas DMS, producción de CH₄ (33.3 ml/gMS degradada), y ácido propiónico (34 mmol/L), los presentó el maíz, siendo la mejor fuente para disminuir la producción de CH₄, seguido de la yuca quien presentó igualdad estadística en la producción de propionato en el horario 24 (44.3 mmol/L).

Palabras claves: degradación, energía, forraje, gases.

Energy substitution effect of maize (*Zea mays*) in ruminant diets on methane production *in vitro* and the fermentation profile.

Summary

The objective of this study was to evaluate the effect of diets based on forage and commercial supplement alternatives that can be used in specialized dairy. We worked with 4 supplements: in the first, the main material for energy supply premium, was the corn grain (*Zea mays*) (MZ), other supplements were obtained by the replacement of 50% of TDN provided by the grain corn for other commodities such as Sorghum grain (*Sorghum vulgare*) (SG), cassava root (*Manihot esculenta*) (YC) and dried orange citrus pulp (*Citrus sinensis*) (PCD). The treatments were 60:40 mixtures of forages (F) (*Cenchrus*

clandestinum 37 days of regrowth) with supplements, leaving 4 treatments FMZ, FSG, FYC and FPCD. The variables evaluated were degradation of dry matter (DMS), production of methane (CH₄), energy losses CH₄ and fermentation profile, using *in vitro* gas production technique (TIVPG). Incubation times were evaluated to 6, 12 and 24 hours. The variables were analyzed via a repeated measures design in time. The comparison of means was performed with a significance level of 5%, by t test. DMS greater was observed at 24 hours for treatment FMZ (65.5%) and less for FPCD (60.6%), digestibility values for FSG and FY were intermediate (62.7 y 62.6%). The production of acetic and butyric acid did not change in any schedule or treatment. Diets tested, the best results for the analyzed variables DMS, production of CH₄ (33.3 ml/gMS degraded), and propionic acid (34 mmol/L), were showed by the corn, still the best source to decrease the production of CH₄, followed by cassava who presented statistical equality in propionate production in 24 hours (44.3 mmol/L).

Keywords: degradation, energy, forage, gases.

Introducción

El CH₄ hace parte de los gases de efecto invernadero (GEI), se produce por fermentación anaerobia de material orgánico, tiene 21 veces más poder de calentamiento que el dióxido de carbono y representa un 14.3% del total de GEI (IPCC 2007). Se estima que la población mundial de los rumiantes produce alrededor del 15 a 17% del total de las emisiones de CH₄ (Moss et al 2000, IPCC 2007). Este gas posee un efecto negativo a nivel ambiental y representa una pérdida de la energía consumida por el animal (Bonilla y Lemus 2012) que no puede ser transformada en leche o en carne.

De acuerdo a la naturaleza y velocidad de fermentación de los carbohidratos de la dieta se pueden reducir las emisiones de CH₄ del ganado a través de modificaciones en las proporciones de ácidos grasos volátiles (AGVs) sintetizados en el rumen (Johnson y Johnson 1995). Las dietas ricas en carbohidratos no estructurales (CNE) disminuyen la

síntesis de acetato y favorecen la producción de propionato; este último compite con el CO_2 por la captura de electrones (hidrógeno), necesarios para la síntesis de CH_4 (Beauchemin et al 2008). Entre el 3 y el 12% de la energía consumida por los rumiantes es transformada en CH_4 . Desde este punto de vista, reducir la producción de CH_4 entérico al mejorar la calidad de la dieta traería como ventajas: incrementar el desempeño animal por conservación de la energía, reducir los costos de alimentación por una mayor eficiencia en el uso de la energía y reducir el impacto de la producción ganadera sobre el ambiente.

Una de las fuentes energéticas más empleadas en la elaboración de los suplementos para vacunos lecheros es el grano de maíz; esto debido a su alto valor energético, alto contenido de almidón y bajo nivel de fibra. Estas características lo convierten en una materia prima muy demandada, no solo para la alimentación animal y humana sino también para la producción de biocombustibles, hecho que ha reducido su disponibilidad e incrementado su valor comercial. En estas condiciones, ha crecido el interés por la evaluación de materias primas alternativas que replacen al maíz, sin afectar el desempeño animal y que por sus características nutricionales puedan contribuir a reducir las emisiones de CH_4 entérico. La pulpa cítrica, la harina de raíz de yuca y el sorgo grano son materias primas que podrían cumplir con las demandas antes planteadas.

La pulpa cítrica (PC) es un subproducto de la extracción industrial del jugo de naranja, tiene un alto potencial de degradabilidad ruminal y puede ser suministrado tal cual, ensilada o deshidratada en ganado lechero y de engorde (Lashkari y Taghizadeh 2015). Se desconoce el impacto de este subproducto sobre la producción de CH_4 , pues contribuye con menos efectos negativos a la fermentación ruminal comparada con alimentos ricos en almidón (Bampidis y Robinson 2006).

La fermentación de la PC genera mayor de acetato, menor producción de propionato y lactato; y a pesar de que fermenta tan rápidamente como el almidón, no deprime el pH ruminal, convirtiéndose en un alimento que tiene bajo potencial para propiciar cuadros de

acidosis láctica (Strobel y Russell 1986, Hatfield y Weimer 1995, Schalch et al 2001, Arthington et al 2002, Bampidis y Robinson 2006) ya que posee un alto contenido de pectinas (22%-31%) y fibra de alta calidad (23% FDN, digestible en rumen un 82-89% y 15% FDA, digestible en rumen en un 72%) (Keller 1984, Bampidis y Robinson 2006, Lashkari y Taghizadeh 2015).

El grano de sorgo presenta una tasa de fermentación más lenta que la del maíz debido a la dureza de la matriz proteica, haciendo al grano más resistente a la hidratación y a la penetración de enzimas (Herrera-Saldana et al 1990 y Theurer et al 1999). Por su parte, la raíz de yuca, presenta una degradabilidad efectiva del almidón mayor que la del maíz y el sorgo, esto debido a la ausencia de pericarpio, endospermo córneo y periférico, matriz proteica y una menor proporción de amilosa que la observada en los cereales (Zeoula y Caldas 2001). Estas diferencias en composición y estructura de los granulos de almidon alteran el patrón de fermentación ruminal, el aporte energético de la dieta y finalmente la eficiencia de la utilización de la energía del alimento.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la sustitución del maíz (*Zea mays*) por fuentes alternativas de energía (pulpa citrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre digestibilidad de la MS, perfil de fermentación y producción de CH₄ *in vitro*.

Materiales y métodos

Sustratos

Fueron evaluados cuatro suplementos comerciales formulados para ser isoenergéticos e isoproteicos (Tabla 1). Los suplementos fueron incubados con pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinum*) de 37 días de rebrote, en una proporción de 1.5 : 1 (pasto : suplemento). El suplemento testigo tuvo como principal materia prima aportante de energía al grano de maíz (MZ). Los restantes suplementos fueron formulados con grano de sorgo (*Sorghum vulgare*) (SG), harina de raíz de yuca (*Manihot esculenta*) (YC) y pulpa cítrica de naranja deshidratada (*Citrus sinensis*) (PCD) de tal manera que remplazaran el 50%

del total de nutrientes digestibles (TDN) aportados por el maíz. Después del mezclado, los suplementos comerciales se peletizaron a una temperatura media en el acondicionador de 68 °C y una presión de vapor de 55 libras por pulgada cuadrada (PSI).

Tabla 1. Ingredientes y composición química de los suplementos comerciales y del pasto Kikuyo.

Ingredientes (%)¹	MZ	SG	YC	PCD	Kikuyo
Maíz	44.3	21.8	19.3	23.9	
Sorgo	-	22.5	-	-	
Yuca	-	-	20.5	-	
Pulpa cítrica	-	-	-	25.8	
Maíz forraje	10	9.3	10	5.0	
Salvado de trigo	11.2	10	11.8	10	
Harina de arroz	8.6	10.8	11.7	7.6	
Torta de girasol	8.0	8	5.04	8	
Torta de soya	8.4	8	12.2	11.2	
Melaza	4.4	4.4	4.4	4.4	
Carbonato de Calcio	3.7	3.7	3.7	2.3	
Sal	0.86	0.89	0.91	0.81	
Bicarbonato de Sodio	0.3	0.3	0.3	0.3	
Premezcla vit min ²	0.2	0.2	0.2	0.2	
Fuente de fósforo ³	0.17	0.1	-	0.58	
<i>Composición química del pasto Kikuyo y los suplementos comerciales (% de la MS)</i>					
Materia seca, %	89.7	89.5	91.5	89.4	85.8
Proteína cruda	18	18.7	18.1	18.6	20.3
Extracto etéreo	4.3	4.3	4.3	4.6	3.1
Cenizas	8.6	8.8	9.5	8.4	10.6
Calcio	1.8	1.9	1.8	1.9	0.6
Fósforo	0.7	0.7	0.7	0.7	0.5

Fibra Cruda	4.6	4.9	5.2	7.7	-
Fibra detergente neutro	17	16.7	19	18.5	63.5
Fibra detergente ácido	8.4	9	8.4	12.6	30.5
CNF ⁴	52.1	51.5	49.1	49.9	2.5
Lignina, % de la MS	2.5	2.8	3	3.6	4.9
Pectinas, % de la MS	1.4	<1.0	<1.0	8.9	-
Energía bruta ⁵	4388	4440	4307	4439	4401
Nutrientes digestibles totales	71.4	70.6	71	71.8	-
Almidón	30.4	31.8	25.6	21.2	-
Amilosa, % del almidón	21.7	17.3	19.9	18.0	-
Amilopectina, % del almidón	78.3	82.7	80.1	82.0	-

¹ MZ=Maíz, SG= Sorgo (con 2.74% de taninos condensados), YC= Yuca, PCD= Pulpa cítrica deshidratada

² Premezcla vitamínico mineral, contenido: Vitamina A 2500000 UI/kg, Vitamina D3 750000 UI/kg, Vitamina E 2000 UI/kg, Hierro 12.5 g/kg, Cobre 2.5 g/kg, Manganeso 10 g/kg, Zinc 10 g/kg, Yodo 0.15 g/kg, Cobalto 0.025 g/kg y Antioxidante BHT 30 g/kg.

³ Fosfato tricálcico

⁴ CNF= Carbohidratos no fibrosos (100-(proteína cruda + extracto etéreo + fibra detergente neutro + cenizas)).

⁵ Expresada en calorías/gramo.

El pasto y los suplementos comerciales se analizaron para determinar su contenido de materia seca (MS) por gravimetría según la NTC 4888 (2000), proteína cruda (PB) por el método Kjeldahl, extracto etéreo (EE) con método soxhlet (EE), cenizas (CZ) por incineración completa a 550° C de acuerdo con la AOAC (1990), calcio por titulación de acuerdo a NTC 302 (1998), fósforo por espectrofotometría de acuerdo a NTC 4981 (2001) (ambos por prueba colorimétrica), fibra cruda NTC 5122 (2002), fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), lignina (Van Soest et al 1991) y energía bruta (EB) en calorímetro adiabático (ISO 9831). Los taninos condensados se analizaron por espectrofotometría de acuerdo a NTC 602 (1999). Para la determinación de almidón total

y contenido de amilosa y amilopectina se utilizó el Kit comercial MEGAZYME ®: Total Starch Assay Kit y amylose/ amylopectin kit.

Técnica *in vitro* de producción de gases

Preparación del medio de cultivo

El día previo al inicio del experimento, el medio de cultivo se preparó siguiendo el protocolo de McDougall (1948): 9.8 g/l de NaHCO_3 , 7 g/l de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.57 g/l de KCl, 0.47 g/l NaCl, 0.12 g/l de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.04 g/l de CaCl_2 . Los reactivos se disolvieron en agua destilada, y la solución resultante se saturó con CO_2 y se almacenó en estufa de ventilación forzada a 39 °C.

Preparación del inóculo e inoculación

Se trabajó con un total de tres inóculos, los dos primeros fueron obtenidos del contenido ruminal de dos vacas secas de raza Holstein con cánula permanente en el rumen, mantenidas bajo condiciones de pastoreo en pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinum*) y para el tercer inóculo, se realizó una mezcla del líquido ruminal de ambas vacas. Con el objetivo de mejorar la calidad del inóculo, ocho días antes de la colecta de líquido ruminal, a los animales se les proporcionó 1kg/día de suplemento comercial. El inóculo ruminal se extrajo manualmente y se almacenó en recipientes térmicos previamente calentados con agua a 40°C para su acopio y transporte. El líquido ruminal en el laboratorio se filtró por medio de dos capas de gasa, y se transfirió a un Erlenmeyer de 500 ml cubierto en la parte externa con papel aluminio para aislarlo de la luz directa, el inóculo fue gaseado continuamente con CO_2 y mantenido en baño María a 39°C.

Preparación de los frascos de incubación

Se emplearon frascos de color ámbar con capacidad de 100 ml, que fueron lavados con agua y secados en estufa de ventilación forzada a 65°C por 48 horas. Se adicionó 3.7g de ácido tricarbálico por cada litro de medio de cultivo media hora antes de servirlo, en todos los tratamientos, para mantener el pH medio un punto por debajo de 7, de acuerdo

a Russel (1998). En cada frasco se pesaron 500 mg de sustrato, se agregaron 5 ml de líquido ruminal y 45 ml de medio de cultivo. Para mantener condiciones de anaerobiosis los frascos se gasearon con CO₂ y se sellaron con tapones de caucho e incubaron en estufa a 39°C (Williams 2000, Posada y Noguera 2005).

Se usaron otros frascos con medio de cultivo e inóculo pero sin sustrato, para descontar la producción de gas causada por el gaseado con CO₂ y la presión procedente de la fermentación de los microorganismos inmersos en el líquido ruminal (Theodorou et al 1994).

Producción de gas, ácidos grasos volátiles y metano

En la parte superior de los frascos por la acumulación de gases, se genera una presión que fue medida a través de un manómetro (Ashcroft 2089QG - Precision Digital Test Gauges, USA), el valor que se obtuvo en unidades de presión (PSI) se transformó a volumen (ml) por medio de la ecuación $Y = -0.1833 + 5.2098X + 0.0598X^2$ (Posada et al 2006). En los horarios de incubación 6, 12 y 24 se realizaron las lecturas de presión y luego se hizo la colecta del gas generado en bolsas plásticas con sellado al vacío para la posterior determinación de concentración de CH₄ por cromatografía de gases.

Para determinar la concentración de CH₄ se tomó con una jeringa gas tight (Restek®, USA) una muestra de 100 µl de gas que fue inyectada en un cromatógrafo de gases Thermo Trace GC Ultra (Thermo Scientific, USA). Las condiciones cromatográficas fueron: horno con temperatura inicial de 30°C y una rampa de 30°C/minuto hasta 200 °C, detector FID (300°C), gas de arrastre helio (1 ml/min), temperatura del inyector 200 °C en modo split (50:1), columna de 30 metros, 0.32 mm y 0.25 µm. La concentración de CH₄ hallada por el cromatógrafo fue determinada según la metodología de López y Newbold (2007).

Con base en las leyes generales de los gases de Boyle y Gay-Lussac (ley de los gases ideales): $PV = nRT$ (Posada y Noguera 2005) y el valor calorífico del metano 55.65 MJ/kg

of CH₄ (13 kcal/g) (IPCC 2006), se obtiene la pérdida de energía bruta (Cal) por producción de metano *in vitro*.

donde:

P= Presión de gas (0.84 atm en Medellín)

V= Volumen de gas de metano acumulado (L)

n= Número de moles de gas (CH₄)

R= 0.0821 L*atm/(K*n), constante molar de un gas a 0°C y 760 mm de Hg

T= Temperatura absoluta (295 °K)

Degradación in vitro de la materia seca (DMS) y producción de ácidos grasos volátiles

La DMS se determinó por gravimetría, relacionando la materia seca degradada en los horarios 6, 12 y 24 horas con la materia seca incubada al inicio del experimento. En estos mismos horarios de incubación las muestras fueron acidificadas con ácido sulfúrico concentrado hasta alcanzar un pH de 2.5 (Noguera et al 2016). De la fracción líquida fueron tomados (40 ml), centrifugados a 10000 r.p.m y almacenados a -20° C para la posterior determinación de los ácidos grasos volátiles por cromatografía de gases. Las condiciones cromatográficas fueron: horno con temperatura inicial de 68°C y una rampa de 10°C/minuto hasta 140°C, gas de arrastre helio, temperatura del inyector 21 °C en modo split (10:1), detector FID (300°C), columna RESTEK (FAMEWAX) de 30 metros, 0.32 mm de diámetro y 0.25 µm.

Análisis Estadístico

Para determinar el efecto de los tratamientos sobre la DMS, la producción de ácidos grasos volátiles y CH₄ , un análisis de medidas repetidas en el tiempo fue realizado con ayuda del procedimiento PROC MIXED de SAS (2001), teniendo en cuenta un nivel de significancia del 5% (P<0.05). En el modelo, los efectos fijos correspondieron a los tratamiento y los horarios de medición (tiempo), y como efecto aleatorio se consideró a los diferentes inóculos ruminales.

Resultados

La degradación *in vitro* de la materia seca (%) no fue afectada por las fuentes de carbohidratos en los horarios 6 y 12 horas ($p>0.05$) (Tabla 2). Transcurridas 24 horas de incubación el tratamiento con PCD presentó la menor degradación (60.6%), en tanto que los tratamientos con MZ, SG y YC fueron estadísticamente iguales para este parámetro ($p>0.05$).

Tabla 2. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre la degradación de la materia seca *in vitro* (%)

Tratamientos ¹	Tiempo de incubación (horas)		
	6	12	24
FMZ	28.8 ± 2.1	42.6 ± 3.8	65.6 ± 1.0 a
FSG	27.1 ± 1.7	40.4 ± 3.1	62.7 ± 3.3 ab
FYC	30.2 ± 1.4	41.9 ± 0.9	62.6 ± 1.2 ab
FPCD	29.0 ± 0.8	38.8 ± 3.9	60.6 ± 1.2 b

¹ Letras minúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos ($p<0.05$).

El volumen acumulado de gases de la fermentación por gramo de materia seca degradada fue equivalente entre tratamientos en las primeras doce horas de incubación ($p>0.05$) (Tabla 3). Con 24 horas de incubación el tratamiento FMZ produjo el menor volumen de gases con 268 ml, en tanto que la producción de gas para los tratamientos FSG, FYC y FPCD varió entre los 319 y 324 ml.

Tabla 3. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre el volumen acumulado de gases *in vitro* (ml/g de materia seca degradada)

Tratamientos ¹	Tiempo de incubación (horas)		
	6	12	24
FMZ	107 ± 23.7	239 ± 13.3	268 ± 29.4 b
FSG	102 ± 19.4	233 ± 14.7	319 ± 24.3 a
FY	100 ± 18.7	247 ± 10.8	322 ± 11.2 a
FPCD	104 ± 18.7	248 ± 10.8	324 ± 6.0 a

¹ Letras minúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$)

La producción de CH₄ para los tratamientos evaluados solo difirió a las 24 horas de incubación *in vitro* ($p < 0.05$) (Tabla 4). En promedio la producción de CH₄ en el tratamiento FMZ fue 23% menor a la registrada en los tratamientos FSG, FYC y FPCD ($p < 0.05$).

Tabla 4. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre la producción de metano *in vitro* (ml/g de materia seca degradada)

Tratamientos ¹	Tiempo de incubación (horas)		
	6	12	24
FMZ	9.0 ± 1.8	24.7 ± 1.8	33.3 ± 1.4 b
FSG	7.9 ± 0.7	23.6 ± 2.8	42.3 ± 6.0 a
FY	8.5 ± 1.0	27.2 ± 0.8	45.0 ± 3.1 a
FPCD	8.0 ± 1.1	24.8 ± 1.0	42.2 ± 2.6 a

¹ Letras minúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$).

La pérdida de energía bruta en calorías (cal) por producción CH₄ se muestra en la Tabla 5. No se evidenció diferencia estadística entre tratamientos ($p > 0.05$) en los dos primeros horarios de incubación. Se registró diferencia estadística ($p < 0.05$) en el horario 24 horas con un menor valor para el tratamiento FMZ con respecto a los otros tratamientos.

Tabla 5. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre las pérdidas de energía bruta (Cal) por producción de metano *in vitro*

Tratamientos ¹	Tiempo de incubación (horas)		
	6	12	24
FMZ	18.7 ± 3.1	75.6 ± 1.8	157 ± 9.0 b
FSG	15.3 ± 0.6	68.4 ± 3.5	190 ± 18.9 a
FY	18.5 ± 2.1	82.2 ± 3.2	203 ± 14.1 a
FPCD	16.9 ± 2.4	69.3 ± 7.5	189 ± 12.4 a

¹ Letras minúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$)

Los valores de pH del ambiente de fermentación no presentaron variación entre tratamientos durante el proceso fermentativo ($p > 0.05$). Los valores registrados siempre fueron superiores a 7, indicando el gran poder tamponante del medio de cultivo.

La producción de ácidos grasos volátiles en mmol/L es presentada en la Tabla 6. En los tres horarios de incubación la producción de ácido acético y butírico no mostró diferencias significativas entre tratamientos; para el propiónico la mayor producción ($p < 0.05$) fue para el tratamiento FY. La relación acetato : propionato (A:P) fue significativamente menor para los tratamientos FMZ y FYC indicando que en estos tratamientos se produjeron un menor número de moles de ácido acético por mol de ácido propiónico.

Tabla 6. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre la producción de ácidos grasos volátiles (mmol/L) *in vitro*

Ácido graso	Tiempo (Horas)	Tratamiento ¹			
		FMZ ²	FSG	FY	FPCD
Acético (A)	6	81.5 ± 23.1	60.3 ± 0.2	90 ± 18.5	61.4 ± 9.4

	12	70.7 ± 8.2	74.6 ± 10.1	66.5 ± 16.4	67.2 ± 8.6
	24	99.2 ± 36.5	112 ± 31.3	103 ± 17.3	96.2 ± 9.0
mol/100 moles	24	69.1	77.7	64.7	75.4
	6	10.0 ± 0.9	9.1 ± 0.1	11.9 ± 0.1	6.7 ± 0
Propiónico (P)	12	12.4 ± 1.7	14.2 ± 4.2	14.3 ± 1.3	11.5 ± 2.7
	24	34.0 ± 16.4 ab	23.0 ± 11.3 b	44.3 ± 18.1 a	21.0 ± 7.8 b
mol/100 moles	24	23.7	16	27.8	16.5
	6	9.4 ± 1.8	8.7 ± 1.6	8.2 ± 0.4	7.9 ± 0.9
Butírico (B)	12	8.2 ± 0.4	8.6 ± 0.4	7.8 ± 1.3	8 ± 0.4
	24	10.3 ± 3.4	9.1 ± 2.4	12.0 ± 3.1	10.4 ± 1.2
mol/100 moles	24	7.2	6.3	7.5	8.1
Relación A:P	24	2.9 ± 1.2 b	4.9 ± 1.9 a	2.3 ± 1.1 b	4.6 ± 2.2 a
Total de AGV	24	143.5	144.1	159.3	127.6

¹ Letras minúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$)

² Suplementos formulados con grano de maíz (FMZ), grano de sorgo (FSG), harina de yuca (FYC) y Pulpa cítrica deshidratada (FPCD)

Discusión

La degradabilidad de la MS fue igual entre los tratamientos que incluyeron los suplementos con maíz, sorgo y yuca. Las semejanzas en los porcentajes de degradación pueden ser atribuidos a que estas dietas presentaron contenidos similares de almidón (entre 31.8 y 25.6% de la MS), amilosa (entre 5.1 y 6,6 % de la MS), amilopectina (entre 20.5 y 26.3% de la MS) y FDA (entre 8.4 y 9% de la MS). Por su parte el tratamiento con pulpa cítrica presentó los menores contenidos de almidón (21.2% de la MS) y mayores proporciones de FDA (12.6% de la MS), hecho que habría repercutido sobre la

digestibilidad de este tratamiento. Al igual que en este experimento, Leiva et al (2000) evaluando el desempeño de vacas lecheras suplementadas con pulpa cítrica o maíz encontró diferencias significativas en la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica a favor del suplemento con maíz, debido a que en su experimento el pH pudo afectar las pectinas y el FDN presentes en la pulpa cítrica, por su mayor sensibilidad a bajos pH que el almidón presente en el maíz (Strobel y Russell 1986). En este experimento no se puede atribuir dichas diferencias en digestibilidad al pH, puesto que los valores registrados durante el proceso de fermentación siempre fueron superiores a 7.3 y no presentaron variación entre tratamientos ($p > 0.05$); indicando el gran poder tamponante del medio de cultivo, a pesar de llevar el ácido tricarbálico.

Por otra parte, la diferencia observada en la degradación de la MS puede atribuirse al tipo de carbohidratos presentes en las materias primas. Los cereales, raíces y tubérculos se caracterizan por presentar más de 70% de almidón, de un 6 a un 10% de carbohidratos fibrosos solubles en detergente neutro (CFSDN) y entre un 0 a un 5% de azúcares; entretanto las pulpas cítricas pueden contener de un 12 a un 40% de azúcares, 25 a 44% de CFSDN y 2% ó menos de almidón en base seca (Leiva et al 2000).

Diferentes trabajos (Holzer et al 1997, Correa 2010) reportan digestibilidades mayores para la yuca que para el maíz. Este comportamiento se explica en el hecho de que el almidón de la yuca presenta una mayor fracción soluble de almidones comparada con el maíz, proporcionándole una mayor capacidad de expansión y menor formación de complejos amilosa-lípido. De igual manera, el almidón de yuca posee un mayor contenido de CNE y ubicación de amilopectina solo en la región cristalina y amilosa presente sólo en la región amorfa (Caldas Neto et al 2000, Zeoula y Caldas 2001, Wanapat 2003).

La degradación de la MS del tratamiento FSG fue estadísticamente igual a la de los demás tratamientos (Tabla 2). El grano de sorgo empleado en este experimento tenía una concentración de 2.74% de taninos condensados (TC), valor que se encontraba en el rango sugerido de TC (2-4% MS) donde no se deprime ni la digestión ni el desempeño

productivo animal (Montossi et al 1997) y fue sometido a un proceso térmico, mejorando la degradación del almidón (Theurer 1986, Oliveiera et al 1993, Bach 2002, Richards y Hicks 2007). Owens (2005) encontró que la degradabilidad ruminal del maíz y el sorgo hojuelados o peletizados fue muy similar entre sí, con valores del 84.2 y 84.9% del almidón consumido. Makkar y Becker (1996) indicaron que bajo condiciones alcalinas los taninos pierden su capacidad de unirse a las proteínas, por consiguiente bajo estas condiciones se produce una transformación de los taninos que conduce a su inactivación, reflejada en un aumento de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

La degradación de las pectinas por parte de los microorganismos ruminales no parece verse afectada por la lignificación de plantas, como ocurre con otros carbohidratos estructurales; esto se observó en la degradación del tratamiento FPCD, que a pesar de tener el mayor contenido de fibra cruda, FDA y lignina (7.7%, 12.6% y 3.6%, respectivamente), tuvo una degradabilidad similar a FSG y FY, pero inferior a la dieta FMZ, esto lo corroboran Leiva et al (2000), quienes encontraron que la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de una dieta totalmente mezclada (TMR) fue ligeramente superior para la dieta de la harina de maíz frente a la dieta de PCD. Por el contrario Miron et al (2002), concluyeron que la sustitución parcial de la dieta de maíz por PCD en unTMR de vacas lecheras de alta producción crea condiciones favorables para la celulólisis en el rumen y mejora la eficiencia de la alimentación, debido a la mayor digestibilidad total de carbohidratos solubles (77.1 y 72.5 %), para una dieta con 21% de pulpa de cítricos y el 9% de grano de maíz frente a una dieta con 20% de granos de maíz y 10% de PCD, respectivamente.

Las menores producciones de gas y CH₄ (Tablas 3 y 4) registradas para el tratamiento FMZ en comparación a los restantes tratamientos indican que proporcionalmente una mayor cantidad de la materia seca degradada en este tratamiento, fue incorporada a la biomasa microbiana como lo sugerido por Makkar (2010). Los datos de la Tabla 5 confirman este hecho donde las pérdidas de energía bruta asociadas a la producción de CH₄ fueron significativamente menores para el tratamiento FMZ. Por otra parte, Noguera

et al (2006), afirman que la densidad energética de la ración favorece el crecimiento microbiano y la rápida colonización del sustrato, sustratos con igual degradación de la materia seca pueden producir diferentes volúmenes de gas y esto se asocia con las pérdidas energéticas que ocasiona el CH₄. Una mayor inclusión de almidón en la dieta de ganado lechero y un aumento en la tasa de fermentación de almidón, reducen la producción de CH₄ por unidad de materia orgánica fermentable (Hatew et al 2015), adicional el maíz grano contiene 52.2% de ácido linoleico del total de ácidos grasos, que por ser insaturado representa un importante medio para reducir la metanogénesis por mayor producción de propionato, disminuyendo las poblaciones de metanogénicos y protozoarios (Moss et al 2000, Hegarty 1999, Pouzo et al 2015).

La mayor cantidad de AGV producidos fue registrada en el tratamiento FY, lo que sugiere una mayor actividad fermentativa en este tratamiento (Tabla 6). La proporción de AGV y las subsecuentes pérdidas de carbono en forma de gases son determinadas por el tipo de poblaciones microbianas, la composición de la dieta y en mayor medida por la naturaleza de los carbohidratos y sus tasas de degradación (Nozière et al 2010). Los granulos de almidón de la yuca presentan una mayor proporción de amilopectina que los cereales, esta característica le confiere a la yuca una más rápida y extensa degradación a nivel ruminal (Zeoula y Caldas 2001).

La producción de acetato y propionato entre los tratamientos FMZ, FSG y FPCD no tuvo diferencias, esto coincide con lo encontrado por Oliveira et al (1993), quienes no encontraron diferencias en la producción de acetato y propionato para el maíz y el sorgo molido, lo anterior concuerda con lo reportado en este experimento en el tratamiento FMZ que también presentó un valor superior en la producción de acetato y propionato. Con respecto a la pulpa cítrica, Broderick et al (2002), hallaron también una producción de propionato ruminal más alta en dietas con un 38% de inclusión de maíz sin pulpa cítrica, frente a dietas con una inclusión de 19% de maíz y 19% de pulpa cítrica.

Conclusiones

En este trabajo, las dietas que contenían suplementos formulados con granos de cereales y yuca presentaron degradaciones de la materia seca equivalentes; la dieta con pulpa cítrica presentó la menor degradación. Una reducción del 23% en las emisiones de CH₄ fue alcanzada en el tratamiento que incluyó como principal fuente de carbohidratos al maíz.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad de Antioquia – UdeA a través de la estrategia de sostenibilidad (2016 -2017) y al Departamento de Ciencia, Tecnología e Innovación COLCIENCIAS por el apoyo para el desarrollo de esta investigación a través del proyecto “Evaluación *in vitro* e *in vivo* de diversas estrategias nutricionales para mitigar las emisiones de metano y su impacto productivo, reproductivo y económico en ganadería de leche especializada en el norte de Antioquia” (Código 1115+569-33874).

Literatura citada

AOAC (Association of Official Analytical Chemist International) 1990 Official Methods of Analysis, 15th ed. AOAC, Arlington, VA, USA.

Arthington J D, Kunkle W E, Martin A M 2002 Citrus pulp for cattle. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 18: 317-326.

Bach A 2002 Transtornos ruminales en el vacuno lechero: un enfoque práctico. In: curso de especialización. 18: 119-139. http://produccionbovina.com.ar/informacion_tecnica/manejo_del_alimento/103-trastornos_ruminales_lechero.pdf

Bampidis V A, Robinson P H 2006 Citrus by-products as ruminant feeds: A review. *Animal Feed Science and Technology*. 128: 175-217. <http://kenanaonline.com/files/0028/28692/Citrus%20by-products%20as%20ruminant%20feeds.pdf>

Beauchemin K A, Kreuzer M, O'mara F, and McAllister T A 2008 Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Animal Production Science*. 48: 21-27. https://www.researchgate.net/publication/248892137_Nutritional_management_for_enteric_methane_abatement_A_review

Bonilla Cárdenas J A y Lemus Flores C 2012 Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 3: 215-246. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11242012000200006&script=sci_arttext&tlng=pt

Broderick G A, Mertens D R, Simons R 2002 Efficacy of carbohydrate sources for milk production by cows fed diets based on alfalfa silage. *Journal of dairy science*. 85: 1767-1776. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(02\)74251-3/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(02)74251-3/pdf)

Caldas Neto S F, Zeoula L M, Branco A F 2000 Mandioca e resíduos das farinheiras na alimentação de ruminantes: Digestibilidade total e parcial. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 29: 2099-2108. <http://www.sbz.org.br/revista/artigos/2873.pdf>

Correa H J, Rodríguez Y G and Jaimes L J 2010 Incubación posruminal de bolsas móviles de nylon mediante una sonda de incubación abomasal. *Livestock Research for Rural Development*, Volume 22, Article # 157. <http://www.lrrd.org/lrrd22/8/corr22157.htm>

Hatew B, Podesta S C, Van Laar H, Pellikaan W F, Ellis J L, Dijkstra J, Bannink A 2015 Effects of dietary starch content and rate of fermentation on methane production in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*. 98: 486-499. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(14\)00743-7/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(14)00743-7/pdf)

Hatfield R D, Weimer P J 1995 Degradation characteristics of isolated and in situ cell wall lucerne pectic polysaccharides by mixed ruminal microbes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 69: 185-196. <http://naldc.nal.usda.gov/download/26426/PDF>

Hegarty R S 1999 Mechanisms for competitively reducing ruminal methanogenesis. *Crop and Pasture Science*. 50: 1299-1306.

Herrera - Saldana R E, Hubber J T, Poore M H 1990 Dry matter, crude protein and starch degradability of five cereal grains. *Journal of Dairy Science*. 73: 2386-2393. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(90\)78922-9/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(90)78922-9/pdf)

Holzer Z, Aharoni Y, Lubimov V, Brosh A 1997 The feasibility of replacement of grain by tapioca in diets fo growing-fattening cattle. *Animal Feed Science and Technology*. 64: 133-141.

IPCC 2006 Emissions from livestock and manure management. Chapter 10 in IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/pdf/4_Volume4/

IPCC 2007 Informe del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el cambio climático. Informe de síntesis.

ISO 9831:1998 2013 Animal feeding stuffs, animal products, and faeces or urine - Determination of gross calorific value - Bomb calorimeter method.

Johnson K A and Johnson D E 1995 Methane emissions from cattle. *Journal of animal science*. 73: 2483-2492.
<https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/73/8/2483>

Keller J 1984 Pectin. In: *Gum and starch technology*. 18th Annual Symposium. Special report 53.

Lashkari S, Taghizadeh A 2015 Digestion kinetics of carbohydrate fractions of citrus by-products. *Veterinary Research Forum*. 6: 41-48.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4405684/>

Leiva E, Hall M B, Van Horn H H 2000 Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as sources of neutral detergent-soluble carbohydrates. *Journal of Dairy Science*. 83: 2866-2875. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(00\)75187-3/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(00)75187-3/pdf)

López S, Newbold C J 2007 Analysis of Methane. Chapter 1 in: *Measuring Methane Production from Ruminants*. Editors Makkar H P, Vercoe P E. Dordrecht, The Netherlands: Springer.

Makkar H P S, Becker K 1996 Effect of pH, temperature, and time on inactivation of tannins and possible implications in detannification studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 1291-1295.

Makkar H P S 2010 *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies. Springer Netherlands, pp 107-144.

McDougall E I 1948 Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemical Journal*. 43, pp 99.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1274641/pdf/biochemj00946-0114.pdf>

Miron J, Yosef E, Ben-Ghedalia D, Chase L E, Bauman D E, Solomon R 2002 Digestibility by dairy cows of monosaccharide constituents in total mixed rations containing citrus pulp. Journal of dairy science, 85: 89-94.
[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(02\)74056-3/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(02)74056-3/pdf)

Montossi F, Liu F, Hodgson J, Morris S T 1997 Influence of low-level condensed tannins concentrations in temperate forages on sheep performance. In Proceedings of the XVII International Grassland Congress Session. 8: 1-2.
<http://www.internationalgrasslands.org/files/igc/publications/1997/1-08-001.pdf>

Moss A R, Jouany J P and Newbold J 2000 Methane production by ruminants: its contribution to global warming. In Annales de zootechnie. 49: 231-253.
<http://www.bashaar.org.il/files/125122005103109.pdf>

Noguera R R, Ramírez I C y Bolivar D M 2006 Efecto de la inclusión de papa (*Solanum tuberosum*) en la cinética de fermentación *in vitro* del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). Livestock Research for Rural Development. Volume 18, Article #62.
<http://www.lrrd.org/lrrd18/5/nogu18062.htm>

Noguera R R, Ramírez J F y Posada S L 2016 Efecto de la concentración de proteína cruda en suplementos para vacas lecheras sobre la degradación de la materia seca *in vitro*. Livestock Research for Rural Development. 28, Article #148.
www.lrrd.org/lrrd28/8/nogu28148.html

Norma Técnica Colombiana NTC 302 1998 Productos químicos agrícolas. Método de ensayo para determinar el contenido de calcio total.

Norma Técnica Colombiana NTC 602 1999 Granos y cereales. Sorgo granífero para consumo animal.

Norma Técnica Colombiana NTC 4888 2000 Alimentos para animales. Determinación del contenido de humedad y materia volátil.

Norma Técnica Colombiana NTC 4981 2001 Alimentos para animales. Determinación del contenido de fósforo. Método espectrofotométrico.

Norma Técnica Colombiana NTC 5122 2002 Alimentos para animales. Determinación del contenido de fibra cruda. Método con filtrado intermedio.

Noziere P, Ortigues-Marty I, Loncke C, Sauvant D 2010 Carbohydrate quantitative digestion and absorption in ruminants: from feed starch and fibre to nutrients available for tissues. *Animal*. 4: 1057-1074.
http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FANM%2FANM4_07%2FS1751731110000844a.pdf&code=156323d3527ee60b1d84a553e6b92ef1

Oliveira J S, Huber J T, Ben-Ghedalia D, Swingle R S, Theurer C B, Pessaraki M 1993 Influence of Sorghum Grain Processing on Performance of Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 76: 575-581.
[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(93\)77377-4/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(93)77377-4/pdf)

Owens F N 2005 Impact of grain processing and quality on Holstein steer performance. In: *Managing and marketing quality Holstein steers*. Managing and marketing quality Holstein steers. Rochester (MN): University of Minnesota, pp 121-40.
http://www.extension.iastate.edu/dairyteam/sites/www.extension.iastate.edu/files/dairyteam/ImpactOfGrainProcessing_Owens.pdf

Posada Ochoa S L, Noguera R R 2005 Técnica *in vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Livestock Research for Rural Development*. 17: 12-19.

Posada Ochoa S L, Rosero Noguera J R, Bolivar Vergara D M 2006 Relación entre presión y volumen para la implementación de la técnica *in vitro* de producción de gases en Medellín, Colombia. En: *Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias*. 19: 407-414. <http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v19n4/v19n4a06>

Pouzo L, Fanego N, Santini F J, Descalzo A and Pavan E 2015 Animal performance, carcass characteristics and beef fatty acid profile of grazing steers supplemented with corn grain and increasing amounts of flaxseed at two animal weights during finishing. *Livestock Science*. 178: 140-149.

Richards C J, Hicks B 2007 Processing of corn and sorghum for feedlot cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 23: 207-221.

Russell J B 1998 The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production *in vitro*. *Journal of Dairy Science*. 81: 3222-3230. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(98\)75886-2/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(98)75886-2/pdf)

SAS Institute 2001 SAS/STAT: Guide for personal computer. Versión 8.2. SAS Institute, Cary, NY, USA.

Schalch F J, Schalch E, Zanetti M A, Brisola M L 2001 Substituição do Milho em Grão Moído pela Polpa Cítrica na Desmama Precoce de Bezerros Leiteiros. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 30: 280-285. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982001000100039&script=sci_arttext&lng=pt

Strobel H J, Russell J B 1986 Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. Journal of Dairy Science.69:2941–2947. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(86)80750-0/pdf)

[0302\(86\)80750-0/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(86)80750-0/pdf)

Theodorou M K, Williams B A, Dhanoa M S, McAllan A B and France J 1994 A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology. 48: 185-197.

Theurer C B 1986 Grain processing effects on starch utilization by ruminants. Journal of Animal Science. 63: 1649-1662.

Theurer C B, Lozano O, Alio A, Delgado-Elorduy A, Sadik M, Huber J T, Zinn R A 1999 Steam-processed corn and sorghum grain flaked to different densities alter ruminal, small intestinal and total tract digestibility of starch by steers. Journal of animal science. 77: 2824-2831.

<https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/77/10/2824>

Van Soest P J, Robertson J B, Lewis B A 1991 Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starchpolysaccharides (NSP) in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science. 74: 3583-3597.

[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(91\)78551-2/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(91)78551-2/pdf)

Wanapat M 2003 Manipulation of cassava cultivation and utilization to improve protein to energy biomass for livestock feeding in the tropics. Asian- Australasian Journal of Animal Science. 16: 463-472. http://ajas.info/upload/pdf/16_70.pdf

Williams B A 2000 Cumulative gas-production techniques for forage evaluation. In: Givens D I, Owen E, Omed H M and Axford R F E (editors). Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. Wallingford (UK). CAB International, pp 475.

Zeoula L M, Caldas Neto S F 2001 Recentes avanços em amido na nutrição de vacas leiteiras. In: Simpósio Internacional En Bovinocultura de Leche, 2. Universidade Federal de Lavras, pp.249-284.

CAPITULO IV

El siguiente capítulo busca dar cumplimiento al objetivo específico 3 del trabajo de tesis. Este manuscrito fue sometido a la revista *Livestock Research for Rural Development* el día 04/mar/2016 y fue aceptado <http://www.lrrd.org/public-lrrd/proofs/lrrd2807/rest28129.html>

Ecuaciones para predecir metano en ganado lechero: un meta-análisis.

C Restrepo^{1,2}, R R Noguera¹, S L Posada¹.

¹Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias-GRICA, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia

² Solla S. A, Carrera 42 No. 33- 80 Itagüí, Colombia

catalinarpoa@gmail.com

Resumen

El objetivo de este trabajo fue generar ecuaciones a partir de datos crudos de composición química y digestibilidad de la dieta, consumo de alimento, producción de leche y parámetros ruminales para predecir la producción de metano (CH₄) en ganado de leche, a través de un meta-análisis. Se realizó una revisión de literatura para la

construcción de la base de datos, conformada por un total de 44 estudios con 114 datos; el programa estadístico SAS (2001) sólo tomó 16 estudios con 47 observaciones. De un total de 27 variables, fueron escogidas mediante criterio propio del investigador y a través de un análisis de componentes principales las siguientes 5 variables predictoras sin transformar y transformadas, estas últimas denotadas con la letra (t); PC: proteína cruda, FDN: fibra en detergente neutro, CMS: consumo de materia seca, F: C (relación forraje: concentrado), EB: energía bruta y kg de leche, esta última, no tuvo que ser transformada, para un total de 6 variables. Se realizó un análisis de efectos mixtos, tomando como efecto aleatorio el estudio, para correr todos los posibles modelos, seleccionando aquel modelo que presentara menor valor para los criterios de información Akaike (AIC) y bayesiano (BIC) y el mayor valor de coeficiente de determinación (R^2) y menor valor del cuadrado medio del error de predicción (CMEP). Se puede concluir que la variable con *valor de p* significativo, < 0.05 fue el consumo de materia seca (CMS) y las otras variables seleccionadas aunque no fueron significativas estadísticamente, aportan desde el punto de vista nutricional a la generación producción CH_4 y a la predicción de las ecuaciones.

Palabras claves: *consumo de materia seca, dieta, producción leche.*

Equations for predicting methane in dairy cattle diet: a meta-analysis.

Summary

The objective of this work was to generate equations from raw data of chemical composition and digestibility of the diet, feed intake, milk production and rumen parameters to predict the production of methane (CH_4) in dairy cattle, through a meta-analysis. A literature review was performed for the construction of the database, where a total of 44 studies with 114 data; SAS (2001) statistical program only took 16 studies with 47 observations. A total of 27 variables were chosen by the own discretion of the investigator and by a principal component analysis the following 5 predictors unprocessed and processed, the latter denoted with a (t); PC: crude protein, NDF: neutral detergent

fiber, dry matter intake CMS: DMI, F: C (proportion forage: concentrate), EB: gross energy and Kg of milk, the last one, did not have to be transformed, for a total of 6 variables. An analysis of mixed effects, taking as a random effect study, to run all possible models, selecting that model to present less value to the information criteria Akaike (AIC) and Bayesian (BIC) and the highest value of coefficient of determination (R^2) and the lower value of the mean squared prediction error (CMEP: MSPE). It can be concluded that the variable with p significant value <0.05 was the DMI (CMS) and other selected variables but were not statistically significant, contributing from the nutritional point of view to generating production CH_4 and prediction equations.

Keywords: *dry matter intake, diet, milk production.*

Introducción

El gas metano (CH_4) forma parte de los gases con efecto invernadero (GEI) y tiene un aporte importante en el calentamiento global y en el cambio climático (Johnson y Johnson 1995). Los rumiantes producen CH_4 durante la fermentación entérica y a partir de estiércol almacenado se produce CH_4 y N_2O (óxido nitroso) (Lesschen et al 2011), contribuyendo en aproximadamente un 28% de todas las fuentes antropogénicas de emisiones de CH_4 (Beauchemin et al 2008).

El CH_4 producido por los rumiantes representa una pérdida energética para el animal, que puede variar de 2 a 12%, dependiendo del consumo de alimento, composición y calidad de la dieta, origen genético y uso de aditivos (Johnson y Johnson 1995). Por lo tanto una porción de la producción de CH_4 entérico en los rumiantes puede ser manipulada y esta disminución usualmente está asociada a una mayor productividad (Leng 1993).

Para evaluar las producciones de CH_4 bajo diferentes estrategias de mitigación, se requiere de un método preciso, confiable y de fácil manejo. El método más común para

cuantificar las emisiones de CH₄ es la cámara respirométrica (Verstegen et al 1987), pues permite obtener mediciones confiables y precisas sobre los gases producidos; unas de las desventajas de este método de cuantificación de gases es que solo tiene animales en confinamiento y es una técnica de alto costo (Berends et al 2014). Para corregir las desventajas anteriores, existe otra técnica ampliamente utilizada: la del trazador con hexafluoruro de azufre (SF₆), que fue desarrollada a principios de 1990 para permitir mediciones en pastoreo (Johnson et al 2007). Existe otra estrategia a través de modelos matemáticos para predecir la producción de CH₄ de ganado vacuno, sin llevar a cabo una gran cantidad de experimentos que son costosos (Ellis et al 2007).

El meta-análisis utiliza modelos matemáticos y es identificado por el uso de métodos estadísticos que integran cuantitativamente los resultados de un conjunto de estudios empíricos sobre un mismo problema de investigación (Martín et al 2006). El alcance de una revisión determina en gran medida, el grado en el cual los estudios incluidos en una revisión son diferentes (Iberoamericano 2012). Por tal razón se necesita de una metodología rápida y económica, donde a través de datos crudos de composición química de la dieta y parámetros de digestibilidad se pueda predecir un valor cercano al real de producción de CH₄. Para ello el objetivo de este trabajo fue generar ecuaciones de predicción de CH₄ entérico a través de un meta-análisis.

Materiales y métodos

Construcción de la base de datos

Se realizó una búsqueda en literatura electrónica para identificar los estudios realizados entre enero de 2005 y enero de 2015. Se utilizaron los siguientes buscadores por internet: Journal of Dairy Science, Acta Agriculturae Scandinavica: Section A, Animal Science, Canadian Journal of Animal Science, Revista Animals (vía EBSCOhost), PubMed (a través de Internet), Journal of Dairy Science, Livestock Science y Animal Feed Science and Technology (por medio de Science Direct), y las siguientes revistas: revista Animal (de Journals Cambridge), Journal of Dairy Science, Livestock Science y Animal Feed

Science and Technology y una tesis de Swedish University of Agricultural Sciences. Las combinaciones de palabras claves fueron (methane), (methane dairy), (methane dairy chamber), (methane dairy AND SF₆) y (methane SF₆).

Los criterios de inclusión para los estudios que fueron utilizados en la base de datos debían cumplir con lo siguiente: (1) las poblaciones estudiadas fueron vacas lactantes tipo leche y se incluyeron razas como Holstein, Rojo Sueco, Jersey y Pardo Suizo; (2) la información sobre la composición de la dieta debía tener reportada al menos 4 de las variables a continuación: % de Materia seca (MS), % de Materia orgánica (MO), % de proteína cruda (PC), % de fibra en detergente neutro (FDN), % de fibra en detergente ácido (FDA), concentración de Energía bruta (EB) y las digestibilidades de cada fracción; Energía neta de lactancia (ENL) Mcal/kg calculada a partir de las fórmulas del NRC., 2001 que relacionan el % de total de nutrientes digestibles (TDN), energía metabolizable y/o digestible (EM o ED), pH ruminal y ácidos grasos volátiles (AGVs); (3) Era necesario que la literatura revisada reportara la producción de leche en kg leche vaca/día, consumo de materia seca (CMS) kg/día, medición de CH₄ entérico en g o L/animal/día, por medio de cámara respirométrica y/o técnica de hexafluoruro de azufre SF₆.

Se excluyeron los estudios que, aun teniendo las anteriores condiciones, presentaran alguna de las siguientes condiciones: (1) Tratamientos que tuvieran aditivos y/o materias primas con posibles propiedades antimetanogénicos como: ionóforos (lasalocid, salinomycin y monensina), enzimas fibrólíticas, ácido fumárico, taninos, saponinas, algunos aceites esenciales, etc (Sauer et al 1998, Patra 2010, Chung et al 2012, Place et al 2013), pero se tuvo presente de dichos artículos la dieta control; (2) Mediciones de CH₄ con láser, capucha de ventilación, técnica *in vitro*: producción de gases, Rusitec y reporte de CH₄ por ecuaciones de predicción, también fueron excluidos (Mills et al 2001, Posada et al 2006, Ellis et al 2007, Chagunda et al 2009, Place et al 2011 y Avila et al 2014).

Selección de estudios

De un total de 745 resultados, se seleccionaron 44 estudios para un total de 114 datos; el programa estadístico SAS (2001) sólo tomó 16 estudios que contenían toda la información de las variables escogidas, pues no en todos los trabajos revisados existía información de todas las variables requeridas.

De las 27 variables descritas en la tabla 1, fueron escogidas mediante criterio propio del investigador y a través de un análisis de componentes principales las siguientes 5 variables predictoras sin transformar y transformadas, estas últimas denotadas con la letra (t): PC: proteína cruda, FDN: fibra en detergente neutro, CMS: consumo de materia seca, F:C (relación forraje: concentrado) que para el cálculo de las ecuaciones de predicción se eliminó esta relación, cuando las dietas se basaban solo en forraje (100%), para evitar sesgos, EB: energía bruta y 1 variable sin transformar debido a que presentó normalidad: Kg leche, para un total de 6 variables.

Diseño estadístico

Para explicar la producción de CH₄ se corrieron todos los posibles modelos, seleccionando aquel modelo que presentara menor valor para los criterios AIC y BIC (Milliken y Johnson 2009, Patra 2013) y el mayor valor de coeficiente de determinación (R²), con el objetivo de eliminar variables con alta correlación que no aportaran al modelo de predicción. Para mejorar la medida de ajuste del modelo se realizó la transformación en algunas de las variables predictoras y la producción de CH₄, debido a la alta dispersión de los datos. Las transformaciones de las variables se realizaron utilizando el procedimiento de Box y Cox (1964), que consiste en encontrar un λ tal que:

$$T(X) = Y = \begin{cases} \frac{X^\lambda - 1}{\lambda} & \lambda \neq 0 \\ \ln X & \lambda = 0 \end{cases}$$

Buscando que la variable transformada tenga una distribución:

$$Y \equiv X^{(\lambda)} \sim N(\mu, \sigma^2)$$

Los λ para las transformaciones fueron encontrados utilizando el comando boxcox de la librería car de R-project (2012).

Los diferentes modelos mixtos comparados consideraron, como efectos fijos las diferentes variables relacionadas con la dieta y de los animales (parámetros ruminales) y como efecto aleatorio los diferentes estudios, y fueron corridos utilizando el procedimiento PROC MIXED (SAS 2001). El modelo en términos matriciales se puede expresar como:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}\boldsymbol{\mu} + \mathbf{e}$$

Donde \mathbf{y} corresponde a un vector de observaciones de la producción de metano, \mathbf{X} y \mathbf{Z} son una matriz que contiene las observaciones de las variables regresoras y una matriz de incidencia que se relaciona con los estudios, respectivamente. $\boldsymbol{\beta}$ corresponde a un vector de soluciones de los efectos fijos o pendientes de la regresión (de las variables independientes) y $\boldsymbol{\mu}$ a la solución del efecto aleatorio de estudio y \mathbf{e} es un vector aleatorio que hace referencia a los efectos residuales.

El estudio se consideró dentro del modelo como un efecto aleatorio debido principalmente a que ignorar el efecto del estudio causa sesgos en los parámetros de estimación (pendientes e intercepto) de los modelos de regresión y por lo tanto se podría incurrir en el error tipo II (St-Pierre 2001). Cualquier tipo de variabilidad entre los estudios de una revisión sistemática se le puede llamar heterogeneidad, esta surge de la diversidad metodológica, o las diferencias en las evaluaciones de resultados indicando que no todos los estudios están calculando la misma cantidad, pero no indica necesariamente que el efecto verdadero de la intervención varíe. Por lo tanto, si se considera un modelo de efectos aleatorios este no “toma en cuenta” la heterogeneidad, en el sentido de que deja de ser un problema, pues allí se toma cada estudio como efecto aleatorio. (Iberoamericano 2012).

La programación en SAS (2001) se describe a continuación:

```

DATA UNO;
PROCMIXED data=uno COVTEST NOCLPRINT NOITPRINT;
TITLE "predicción de metano con 16 estudios";
CLASS Study;
MODEL CH4 = PC FDN CMS kgleche FC EB/SOLUTION outp=salida;
RANDOM Study/type=VC solution;
RUN;

```

Se usó el procedimiento para efectos mixtos (fijos y aleatorios) PROC MIXED, NOCLPRINT como comando de control de impresión de la información, COVTEST permite analizar los componentes de la varianza y covarianza, VC es la estructura de covarianza y la instrucción RANDOM coloca al estudio como efecto aleatorio, basados en lo descrito por St-Pierre en el 2001.

Para generar solo el intercepto la programación en SAS (2001) fue:

```

DATA UNO;
PROCMIXED data=uno COVTEST NOCLPRINT NOITPRINT;
TITLE "solo el intercepto";
CLASS Study;
MODEL CH4 = /SOLUTION outp=salida;
RANDOM Study/type=VC solution;
RUN;

```

Para elegir el modelo más correcto se tuvo en cuenta aquel que presentara un mayor coeficiente de determinación (R^2) según lo descrito por Nakagawa y Schielzeth (2013), que resulta de restarle a 1 la relación entre el valor de menos dos veces la verosimilitud

del modelo con todos los efectos (L_β) y el valor de menos dos veces la verosimilitud del modelo con solo el intercepto (L_0),

$$R^2 = 1 - \frac{-2\ln(L_\beta)}{-2\ln(L_0)}$$

y el valor más bajo de los criterios de información bayesiana (AIC y BIC). (Milliken y Johnson 2009, Patra, 2013). Y el valor más bajo de (CMEP o MSPE) obtenido con la siguiente fórmula:

$$\text{MSPE} = \sum_{i=1}^n (O_i - P_i)^2/n$$

Donde O_i es el valor observado, P_i es el valor predicho y n es el número de observaciones

Una vez se obtuvo el mejor modelo se le realizaron los respectivos análisis para evaluar que cumpliera con los supuestos de normalidad de los residuales (prueba de shapiro-wilk), heterogeneidad de varianza (test de levene) y de independencia (se asumió por el origen de los datos).

Resultados

En un modelo realizado previamente se incluyó la técnica de medición, SF₆ y cámara respirométrica, pero esta inclusión no fue significativa, por lo que fue retirada de las variables predictoras, pues el objetivo de estas ecuaciones de predicción es para usos rápidos y económicos en campo.

Una descripción de los factores de los animales y de la dieta recogidos y utilizados para realizar el meta-análisis sin transformar, se presenta en la tabla 1. Los valores atípicos fueron eliminados para la generación de los modelos de predicción.

Tabla 1. Descripción estadística de las características de la dieta y de parámetros animales en el conjunto de datos utilizados para predecir la producción de CH₄.

Variable	n	Media	DE	Mín.	Max.
Composición de la dieta, % de la MS					
MS %	63	43.9	20.4	14.5	89.8
MO, % MS	51	92.1	1.97	84.6	94.8
PC, % MS	86	16.7	2.13	13.3	21.9
FDN, % MS	108	39.4	6.99	25.3	59.0
FDA, % MS	90	23.9	3.80	16.2	35.0
EB, Mcal	67	4.41	0.178	3.99	4.92
ENL, Mcal/kg	58	1.60	0.140	1.20	1.90
Consumo de alimento					
CMS, kg/día	108	18.9	3.22	13.4	28.3
Relación F:C	96	2.39	2.01	0.220	14.0
Leche, kg/día	104	24.8	6.54	12.8	39.8
MS dig, kg	32	14.2	2.57	8.95	18.7
MO dig. Kg	43	12.6	2.62	8.12	17.9
PC dig, kg	34	2.06	0.600	0.570	3.32
FDN dig, kg	51	4.54	1.06	2.59	7.46
FDA dig, kg	24	2.55	0.720	1.38	3.69
EB Consumida, Mcal/kg	71	78.4	15.91	42.1	120
Digestibilidad de la dieta					
dig CMS	32	66.9	5.39	49.2	75.3
dig MO %	59	73.0	6.80	52.0	85.9
dig PC %	34	65.8	7.48	47.1	83.0
dig FDN %	51	62.3	12.4	36.5	86.5
dig FDA %	24	55.0	13.4	31.8	78.1
Parámetros ruminales					

pH	49	6.39	0.300	5.92	7.04
Ace, mM	54	65.0	11.7	40.1	89.6
prop, mM	54	21.2	5.89	9.57	32.0
ace:prop	54	3.20	0.640	2.16	4.57
Produccion de CH₄					
CH ₄ , g/día	108	380	84.6	233	648
CH ₄ /CMS, g/kg	108	20.4	4.19	8.50	36.3

MS: Materia seca, MO: Materia orgánica, PC: Proteína cruda, FDN: Fibra en detergente neutro, FDA: Fibra en detergente ácido, EB: Energía Bruta, ENL: Energía neta de lactancia, CMS: consumo de materia seca, Relación (%/%) de F:C: Forraje: Concentrado, dig: digestible, ace: acético, prop: propiónico. mM: milimolar.

La tabla 2. Presenta las variables escogidas y algunas de ellas transformadas, para la generación de las ecuaciones de predicción de CH₄.

Tabla 2. Descripción estadística de los datos utilizados para predecir la producción de CH₄ (transformados:t)

Variable	n	Media	DE	Mín.	Max.	*(λ)
Composición de la dieta, % de la MS						
PCt	86	0.439	0.000198	0.439	0.440	-2.273
FDNt	108	2.85	0.105	2.59	3.10	-0.141
EBt, Mcal	67	0.207	0.0000307	0.207	0.207	-4.818
Consumo de alimento						
CMSt	108	1.19	0.0184	1.15	1.23	-0.747
Relación ¹ F:Ct	96	0.619	0.705	-1.51	2.64	NA
Leche, kg/día ²	104	24.8	6.54	12.8	39.8	NA
FDN dig, kg ²	51	4.54	1.06	2.59	7.46	NA
Produccion de CH₄						
CH ₄ t	108	2.26	0.0202	2.22	2.31	-0.400

¹la variable F:C, precisa transformación por logaritmo natural

²Variables que cumplen supuesto de normalidad, por lo tanto no requieren transformación

* (λ): valor de lambda por transformación Box cox

NA: no aplica

Los diferentes modelos seleccionados, con el procedimiento PROC MIXED, con el estudio como efecto aleatorio, se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Modelos propuestos para predecir la producción de CH₄

* Ecuación	RV ¹	SV ²	AIC ³	BIC ⁴	R ²	CMEP ⁵
A CH ₄ = PCt+FDNt+CMSt+KgLeche+FCt+EBt	515	2447	370	372	0.681	316
B CH ₄ = PC+FDN+CMS+KgLeche+FC+EB	572	2292	430	432	0.630	354
C CH ₄ = PCt+FDNt+CMSt+FCt+EBt	505	2364	375	376	0.678	317
D CH ₄ = PC+FDN+CMS+FC+EB	557	2261	434	436	0.626	351
E CH _{4t} = PCt+FDNt+CMSt+KgLeche+FCt+Ebt	0.000042	0.000188	-283.1	-282	0.537	0.0000256

*Identificación de la ecuación, en todas las ecuaciones hay un total de 16 estudios con 47 observaciones

¹ Varianza residual

² Componente de varianza atribuible al efecto del estudio

³ Criterio de información Akaike

⁴ Criterio de información Bayesiana

⁵ Cuadrado medio del error de predicción, siglas en inglés (MSPE: mean square prediction error)

R²: coeficiente de determinación

CH₄: metano, PC: Proteína cruda, FDN: Fibra en detergente neutro, EB: Energía Bruta, CMS: consumo de materia seca, Relación (%/%) F: C: Forraje: Concentrado; t: variable transformada.

En todas las ecuaciones de regresión, la única variable significativa fue el CMSt y CMS, con un valor $p < 0.05$. Por alta correlación con la FDN, la variable kg de FDN digestible fue excluida de los modelos, las otras variables no incluidas en la tabla 3, pertenecientes a la tabla 1, no presentaban todas las observaciones requeridas, por lo tanto tampoco fueron incluidas en los modelos.

Para retransformar ($Y t^*$) las variables transformadas que tienen la letra t, se usa la siguiente fórmula según sea el caso, de acuerdo a los valores λ , que se hayan obtenido en la transformación box cox de las variables:

$$Y_t^* = \begin{cases} (\lambda Y_t + 1)^{1/\lambda} & \lambda \neq 0 \\ \exp(Y_t) & \lambda = 0 \end{cases}$$

exp: exponencial, se usa cuando la transformación se hizo por logaritmo natural (ln)

Las ecuaciones de cada modelo de la tabla 3. Son descritas a continuación:

Ecuación de regresión (A):

$$CH_4 = -83792 + 34958 (PC_t) + 117.73 (FDN_t) + 2505.49 (DMI_t) + 0.01596 (kg_{leche}) + 3.2213 (FC_t) + 315835 (GrossEt)$$

Ecuación de regresión (B), con las variables sin transformar:

$$CH_4 = -157.95 + 1.8241 (PC) + 1.8244 (FDN) + 13.2360 (DMI) + 0.7965 (kg_{leche}) + 1.1647 (FC) + 35.1557 (GrossE)$$

Ecuación de regresión (C), sin kg de leche:

$$CH_4 = -84431 + 34555 (PC_t) + 117.85 (FDN_t) + 2508 (DMI_t) + 3.2194 (FC_t) + 319752 (GrossEt)$$

Ecuación de regresión (D), con las variables sin transformar y sin kg de leche:

$$CH_4 = -185.96 + 1.7020 (PC) + 1.7351 (FDN) + 14.0532 (DMI) + 0.8620 (FC) + 44.0221 (GrossE)$$

Ecuación de regresión (E), con el CH₄t transformada:

$$CH_4t = -20.7820 + 9.4983 (PCt) + 0.03388 (FDNt) + 0.6921 (DMI_t) - 0.00014 (kgleche) + 0.001408 (FCt) + 86.5975 (GrossEt)$$

Para utilizar la ecuación que tenga variables transformadas (t), se deben tener en cuenta los λ o método de transformación de datos obtenidos por el investigador; en este estudio los valores están en la tabla 2. de cada variable transformada.

Para ilustrar la relación de los valores predichos y observados, solo se presentan gráficamente las ecuaciones A y B en las figuras 1 y 2 respectivamente.

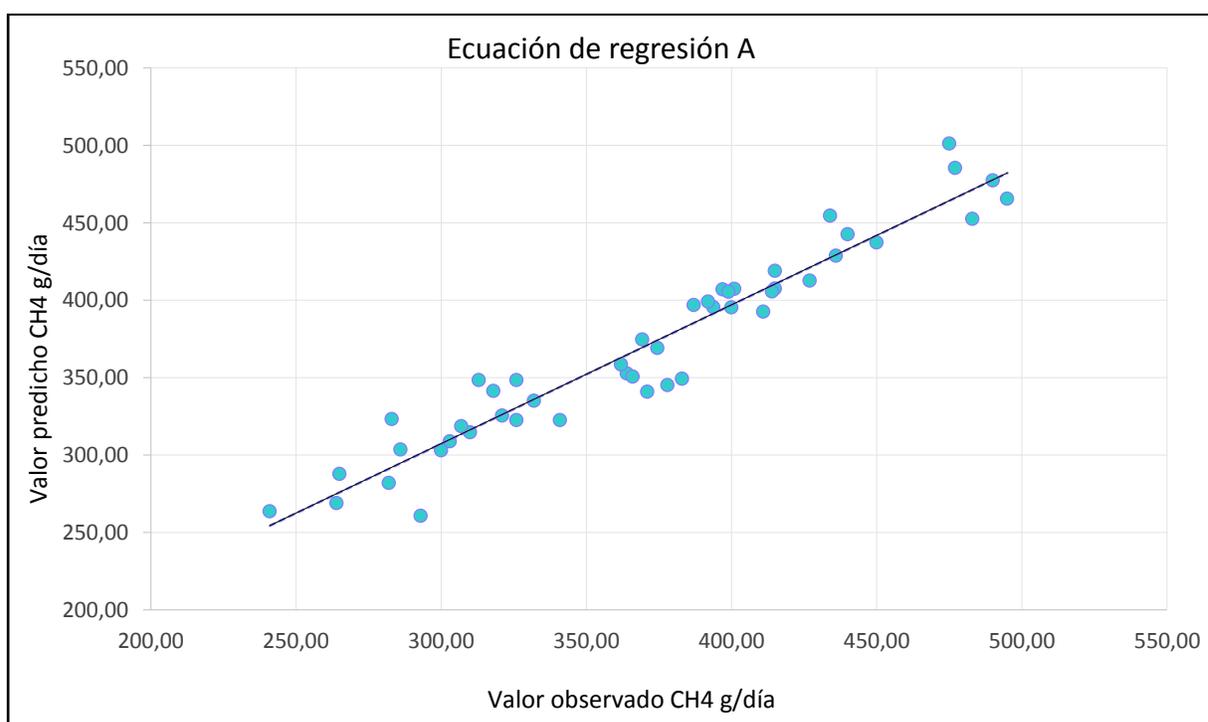


Figura 1. Relación entre el valor predicho y observado (CH₄ g/día), ecuación A.

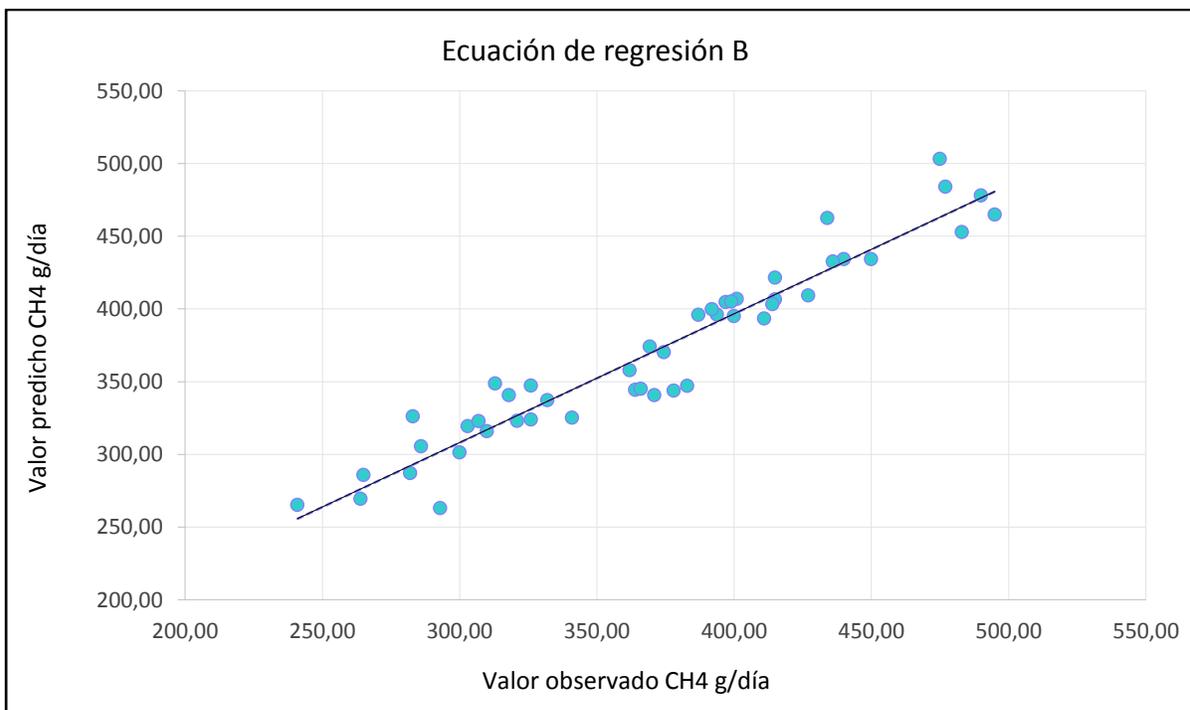


Figura 2. Relación entre el valor predicho y observado (CH₄ g/día), ecuación B.

Discusión

En otros estudios (Mills et al 2003, Ellis et al 2007, Patra 2013, Ramin y Huhtanen 2013), encontraron que el CMS predijo la producción de CH₄ con un R² de 0.64 hasta 0.85, seguido del consumo de energía metabolizable con un R² de 0.53, % de FDN de la dieta con un R² de 0.44 y % de FDA de la dieta con un R² de 0.34 hasta 0.4, lo que indica que el uso de las variables predictoras CMS y FDN usadas en este análisis concuerda con lo usado por otros autores y tienen un buen aporte en la predicción de CH₄.

Las mejores ecuaciones A, C y B estuvieron relacionadas con un alto R² (0.681, 0.678 y 0.630) y menores valores de BIC (372, 376 y 432) y CMEP (316, 317 y 354) respectivamente, lo anterior concuerda con lo encontrado en las mejores ecuaciones de predicción de Ellis et al (2007), donde incluían el CMS y también fueron escogidas por presentar menores valores de BIC y CMEP y mayores valores de R². Aunque el R² (0.630 y 0.626) de la ecuación B y D es menor comparado con la ecuación A y C (0.681 y 0.678),

es una ecuación más sencilla que para efectos prácticos, es de más fácil uso en campo, pues no es necesario transformar y retransformar los datos; en el caso de la ecuación D, es para uso en campo cuando no se conoce el dato exacto de kg de producción de leche/vaca/día. La ecuación E, es la única que usa la variable respuesta (CH_4) transformada, es más compleja de usar pues lleva todas las variables transformadas y ellos implicaría retransformarlas para obtener el dato predicho de CH_4 , adicional es la ecuación con menor R^2 0.537.

Las figuras 1 y 2, indican una buena relación entre los valores observados y predichos para la producción de CH_4 , en la medida que tienen unos R^2 altos: 0.681 y 0.630 y bajos valores de CMEP: 316 y 354, la primera ecuación tiene algunas variables que debían ser transformados y la segunda ecuación no tiene ninguna variable predictora transformada.

Jentsch et al (2007), informó que existe una relación más estrecha entre la producción de CH_4 y nutrientes digestibles en comparación con los nutrientes en crudo ($R^2 = 0.90$ vs. 0.86). Los modelos de regresión son mejores con más descripciones de composición de la dieta (Wilkerson et al 1995), en especial cuando se adiciona la digestibilidad de las fracciones nutricionales; en este análisis aunque se tuvieron en cuenta las variables de digestibilidad, al momento de generar las ecuaciones de predicción de CH_4 no fueron ingresadas, por la poca disponibilidad de datos en los estudios revisados.

En muchos estudios las ecuaciones de predicción se hacen por el procedimiento en SAS (2001) PROC CORR (para análisis de correlación), pero este no tiene en cuenta los efectos aleatorios del estudio; por lo tanto, estos resultados son probablemente sesgados, además, este análisis no tiene en cuenta la interacción entre las variables (Ellis et al 2007). Por ello para obtener las ecuaciones de predicción propuestas en la tabla 3, se utilizó cada estudio como efecto aleatorio, de acuerdo a St-Pierre (2001).

Ellis et al (2007), también sugieren la utilización del uso de la proporción forraje: concentrado (F:C) en los análisis de predicción de CH_4 ya que hace parte de la variable

CMS y a su vez existe una correlación positiva de la FDN (kg / día) con la producción de CH₄ que puede deberse al resultado de un aumento en la fermentación ruminal, disminución en la velocidad de paso del rumen, y alta relación acetato : propionato debido a la FDN, al CMS y las características de la fracción fibrosa de la dieta (Benchaar et al 2001, Boadi et al 2004). Otros autores han reportado efectos variables en el aumento de la proporción de los suplementos comerciales en la producción de CH₄ (Van Soest 1994, Russell 1998).

Aumentar el nivel de carbohidratos no estructurales en la dieta en un 25% reduciría la producción de CH₄, pero esto puede resultar en otros efectos perjudiciales por ejemplo problemas de acidosis, laminitis y de fertilidad (Moss et al 2000); la acidosis puede estar asociada con deficiencia de FDN y de fibra efectiva (Boadi et al 2004). Las simulaciones ruminales realizadas por Benchaar et al (2001) mostraron que la producción de CH₄ (MJ / día) aumenta cuando el porcentaje de forraje en la dieta se aumentó de 30 a 80%. La disminución del porcentaje de forraje de la dieta da lugar a un cambio en la fermentación ruminal hacia aumentar la producción de propionato y la disminución de pH ruminal (Church 1988) y esto favorece vías competitivas para el uso de H₂ (hidrógenos) en el rumen, y, por tanto disminuir la producción total de CH₄ (Moss et al 2000). Por ello es importante incluir las proporciones forraje: concentrado, para las predicciones de producción de CH₄.

El efecto directo sobre la metanogénesis de la producción de leche y/o carne es todavía variable y poco claro, pero cuando la producción de CH₄ se lleva a unidad de producto, esta se reduce (Moss et al 2000).

Para la inclusión de la PC como variable predictora se tuvo en cuenta lo enunciado por Bach et al (2005) y McSweeney et al (2001), quienes reportaron que una mayor concentración de PC se ha asociado más con la disminución en las emisiones de CH₄ que la misma fermentación de carbohidratos (Cone y Van Gelder 1999, Jentsch et al 2007). La velocidad y extensión a la cual se produce la degradación de proteínas depende

de la actividad proteolítica de la microbiota ruminal y del tipo de proteína de la dieta, así como las interacciones con otros nutrientes y otros factores (Bach et al 2005 y McSweeney et al 2001).

La asincronía entre el nitrógeno y la disponibilidad de energía en el rumen, provoca un desacoplamiento en la fermentación (Casper et al 1994, Oba y Allen 2003). El rendimiento de la proteína microbiana ruminal (PMR) no sólo depende de la solubilidad de PC de la dieta, sino también en la fuente de energía fermentable y grado de sincronización ruminal de la PC y el catabolismo de los hidratos de carbono (Beever 1993).

La producción de metano entérico constituye una pérdida energética para el rumiante que representa entre el 2 y el 12% de la energía bruta consumida (Johnson y Johnson 1995). En otros estudios se incluye la energía metabolizable (EM) en relación a la EB (Blaxter y Clapperton 1965 y Ramin y Huhtanen 2013), pero debido a la poca información de EM, no se tuvo en cuenta esta variable y solo se tuvo en cuenta la EB.

Conclusión

La variable con mayor influencia en la predicción de la producción de metano fue el consumo de materia seca (CMS), las otras variables seleccionadas PC, FDN, F: C, EB y kg de leche, aunque no fueron significativas estadísticamente, aportan desde el punto de vista nutricional a la producción de CH₄ y ayudan a mejorar la predicción del modelo.

Agradecimientos

Los autores agradecen al personal de la empresa Solla S.A, en especial al Dr. Luis Miguel Gómez, y al Departamento de Ciencia, Tecnología e Innovación COLCIENCIAS por el apoyo para el desarrollo de esta investigación a través del proyecto “Evaluación *in vitro* e *in vivo* de diversas estrategias nutricionales para mitigar las emisiones de metano y su

impacto productivo, reproductivo y económico en ganadería de leche especializada en el norte de Antioquia” (Código 1115+569-33874).

Literatura citada

Avila-Stagno J, Chaves A V, Ribeiro G O, Ungerfeld E M and McAllister T A 2014 Inclusion of glycerol in forage diets increases methane production in a rumen simulation technique system. *British Journal of Nutrition.* 111: 829-835. http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FBJN%2FBJN111_05%2FS0007114513003206a.pdf&code=f8f1ff2f1f37688cd990e75cf703ee45

Bach A, Calsamiglia S and Stern M D 2005 Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science.* 88: E9-E21. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(05\)73133-7/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(05)73133-7/pdf)

Beauchemin K A, Kreuzer M, O'mara F, and McAllister T A 2008 Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Animal Production Science.* 48: 21-27. https://www.researchgate.net/publication/248892137_Nutritional_management_for_enteric_methane_abatement_A_review

Beever D E 1993 Ruminant animal production from forages—present position and future opportunities. M. Baker M.(Eded.) *Grassland for our World.* SIR Publishing, Wellington.

Benchaar C, Pomar C and Chiquette J 2001 Evaluation of dietary strategies to reduce methane production in ruminants: A modelling approach. *Canadian Journal of Animal Science.* 81: 563-574. <http://www.nrcresearchpress.com/doi/pdf/10.4141/A00-119>

Berends H, Gerrits W J J, France J, Ellis J L, Van Zijderveld S M and Dijkstra J 2014 Evaluation of the SF 6 tracer technique for estimating methane emission rates with

reference to dairy cows using a mechanistic model. *Journal of Theoretical Biology*. 353: 1-8.

Blaxter K L and Clapperton J L 1965 Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *British journal of nutrition*. 19: 511-522.
http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FBJN%2FBJN19_01%2FS0007114565000466a.pdf&code=bbc1dea5adb7fc4cbe3d4e84592ebdd3

Boadi D A, Wittenberg K M, Scott S L, Burton D, Buckley K, Small J A and Ominski K H 2004 Effect of low and high forage diet on enteric and manure pack greenhouse gas emissions from a feedlot. *Canadian Journal of Animal Science*. 84: 445-453.
<http://www.nrcresearchpress.com/doi/pdf/10.4141/A03-079>

Box G E P and Cox D R 1964 An Analysis of Transformations. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B*. 26: 211-252.
<http://www.econ.illinois.edu/~econ508/Papers/boxcox64.pdf>

Casper D P, Schingoethe D J, Brouk M J and Maiga H A 1994 Nonstructural carbohydrate and undegradable protein sources in the diet: growth responses of dairy heifers. *Journal of Dairy Science*. 77: 2595-2604.
[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(94\)77200-3/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(94)77200-3/pdf)

Chagunda M G G, Ross D, and Roberts D J 2009 On the use of a laser methane detector in dairy cows. *Computers and Electronics in Agriculture*. 68: 157-160.

Chung Y H, Zhou M, Holtshausen L, Alexander T W, McAllister T A, Guan L L, Oba M and Beauchemin K A 2012 A fibrolytic enzyme additive for lactating Holstein cow diets: Ruminal fermentation, rumen microbial populations, and enteric methane emissions. *Journal of dairy science*. 95: 1419-1427.
[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(12\)00099-9/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(12)00099-9/pdf)

Church D C 1988 The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition. Prentice Hall, pp 269-297.

Cone J W and Van Gelder A H 1999 Influence of protein fermentation on gas production profiles. Animal Feed Science and Technology. 76: 251-264.

Ellis J L, Kebreab E, Odongo N E, McBride B W, Okine E K and France J 2007 Prediction of methane production from dairy and beef cattle. Journal of dairy science. 90: 3456-3467. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(07\)71795-2/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(07)71795-2/pdf)

Iberoamericano C C 2012 Manual Cochrane de Revisiones Sistemáticas de Intervenciones, versión 5.1. 0 [actualizada en marzo de 2011][Internet]. Barcelona: Centro Cochrane Iberoamericano. https://es.cochrane.org/sites/es.cochrane.org/files/uploads/Manual_Cochrane_510_redu_it.pdf

Jentsch W, Schweigel M, Weissbach F, Scholze H, Pitroff W and Derno M 2007 Methane production in cattle calculated by the nutrient composition of the diet. Archives of Animal Nutrition. 61: 10-19.

Johnson K A and Johnson D E 1995 Methane emissions from cattle. Journal of animal science. 73: 2483-2492. <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/73/8/2483>

Johnson K A, Westberg H H, Michal J J, Cossalman M W 2007 The SF6 Tracer Technique: Methane Measurement from Ruminants. Measuring Methane Production from Ruminants, pp 33-67.

Leng R A 1993 Quantitative ruminant nutrition – a green science. Australian Journal of Agricultural. 44: 363-380. <http://www.ciesin.org/docs/004-180/004-180.html>

Lesschen J P, Van den Berg M, Westhoek H J, Witzke H P and Oenema O 2011 Greenhouse gas emission profiles of European livestock sectors. *Animal Feed Science and Technology*. 166: 16-28.

McSweeney C S, Palmer B, McNeill D M, Bunch R and Krause D O 2001 Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. 91: 83-93.
https://www.researchgate.net/publication/46026271_Microbial_interactions_with_tannins_nutritional_consequences_for_ruminants_Anim_Feed_Sci_Technol

Martín J L R, Tobías A and Seoane T 2006 Revisión sistemática en las ciencias de la vida. Toledo: FISCAM.

Milliken G A and Johnson D E 2009 Analysis of Messy Data, Volume 1: Designed Experiments. Volume 1. CRC Press.

Mills J A, Dijkstra J, Bannink A, Cammell S B, Kebreab E and France J 2001 A mechanistic model of whole-tract digestion and methanogenesis in the lactating dairy cow: model development, evaluation, and application. *Journal of Animal Science*. 79: 1584-1597.
<https://www.animalsciencepublications.org/publications/search?search%5B-3%5D=&searchType%5B-3%5D=Any&search%5B-2%5D=&searchFields%5B-2%5D%5BAuthor%5D=Author&searchType%5B-2%5D=Phrase&search%5B-1%5D=A+mechanistic+model+of+whole-tract+digestion+and+methanogenesis+in+the+lactating+dairy+cow%3A+model+development%2C+evaluation%2C+and+application&searchFields%5B-1%5D%5BTitle%5D=Title&searchType%5B-1%5D=Phrase&volume=&issue=&year=&first-page=&journal%5Bjas%5D=jas&search%5B0%5D=>

Mills J A N, Kebreab E, Yates C M, Crompton L A, Cammell S B, Dhanoa M S, Agnew R E, and Francia J 2003 Alternative approaches to predicting methane emissions from dairy cows. *Journal of Animal Science*. 81:3141–3150. <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/81/12/0813141?highlight=&search-result=1>

Moss A R, Jouany J P and Newbold J 2000 Methane production by ruminants: its contribution to global warming. In *Annales de zootechnie*. 49: 231-253. <http://www.bashaar.org.il/files/125122005103109.pdf>

Nakagawa S and Schielzeth H 2013 A general and simple method for obtaining R² from generalized linear mixed-effects models. *Methods in Ecology and Evolution*. 4: 133-142. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.2041-210x.2012.00261.x/epdf>

National Research Council (NRC) 2001 The nutrient requirement of dairy cattle. Seventh edition; National Academy Press, Washington, D. C, pp 381.

Oba M and Allen M S 2003 Effects of diet fermentability on efficiency of microbial nitrogen production in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*. 86: 195-207. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(03\)73600-5/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(03)73600-5/pdf)

Patra A K 2010 Meta-analyses of effects of phytochemicals on digestibility and rumen fermentation characteristics associated with methanogenesis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 90: 2700-2708.

Patra A K 2013 The effect of dietary fats on methane emissions, and its other effects on digestibility, rumen fermentation and lactation performance in cattle: a meta-analysis. *Livestock Science*. 155: 244-254.

Place S E, Pan Y, Zhao Y and Mitloehner F M 2011 Construction and operation of a ventilated hood system for measuring greenhouse gas and volatile organic compound emissions from cattle. *Animals*. 1: 433-446. <http://www.mdpi.com/2076-2615/1/4/433/htm>

Place S E, Pan Y, Zhao Y and Mitloehner F M 2013 Short-term dose effects of feeding monensin on methane emissions from lactating Holstein dairy cattle. In *Energy and protein metabolism and nutrition in sustainable animal production*. Wageningen Academic Publishers, pp 493.

Posada Ochoa S L, Rosero Noguera J R, Bolivar Vergara D M 2006 Relación entre presión y volumen para la implementación de la técnica *in vitro* de producción de gases en Medellín, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 19: 407-414. <http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v19n4/v19n4a06.pdf>

R-project: R Core Team 2012 R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>

Ramin M and Huhtanen P 2013 Development of equations for predicting methane emissions from ruminants. *Journal of Dairy Science*. 96: 2476-2493. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(13\)00094-5/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(13)00094-5/pdf)

Russell J B 1998 The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production *in vitro*. *Journal of Dairy Science*. 81:3222-3230. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(98\)75886-2/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(98)75886-2/pdf)

SAS Institute 2001 SAS/STAT: Guide for personal computer. Versión 8.2. SAS Institute, Cary, NY, USA.

St-Pierre N R 2001 Invited review: Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. *Journal of Dairy Science*. 84: 741-755.

[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(01\)74530-4/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(01)74530-4/pdf)

Sauer F D, Fellner V, Kinsman R, Kramer J K G, Jackson H A, Lee A J, Chen S 1998 Methane output and lactation response in Holstein cattle with monensin or unsaturated fat added to the diet. Journal of Animal Science. 76: 906-914.
<https://www.animalsciencepublications.org/publications/search?searchTab=&doi=&search%5B0%5D=Methane+output+and+lactation+response+in+Holstein+cattle+with+monensin+or+unsaturated+fat+added+to+the+diet&searchFields%5B0%5D%5Btitle%5D=title&searchType%5B0%5D=Manual&search%5B1%5D=sauer&searchFields%5B1%5D%5Bauthor%5D=author&searchType%5B1%5D=Manual&year=&volume=&issue=&first-page=&citation-year=&citation-volume=&citation-first-page=&num-results=10&sort=relevance&stem=false&open-access=false&journal%5Bjas%5D=jas&searchTab=#>

Van Soest PJ 1994 Nutritional ecology of ruminants. Ithaca, NY: Cornell University Press, pp 87-187.

Verstegen M W A, VanderHel W, Brandsma H A, Henken A M and Bransen A M 1987 The Wageningen Respiration Unit for Animal Production Research: A Description of the Equipment and its Possibilities. Energy Metabolism in Farm Animals. Springer Netherlands, pp 21-48

Wilkerson V A, Casper D P and Mertens D R 1995 The prediction of methane production of Holstein cows by several equations. Journal of Dairy Science. 78: 2402-2414.
[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(95\)76869-2/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(95)76869-2/pdf)

Conclusiones Generales

El conocimiento previo de la composición química y del comportamiento en degradabilidad de la materia seca, parámetros productivos y ruminales, producción de ácidos grasos volátiles y metano del concentrado o suplemento comercial y de los pastos que las vacas Holstein van a consumir, es importante para tomar decisiones a nivel de campo, pues permite utilizar la mejor opción dietaria para optimizar la productividad de los hatos en pro de disminuir el impacto perjudicial al medio ambiente.

Se recomienda consumir el pasto Ryegrass a los 37 días y el pasto Kikuyo entre los 37 y 44 días, por su mayor degradación de la MS y producción de AGVs, que denotan un mayor aporte energético para el animal.

La mezcla forraje con suplemento con maíz FMZ, fue la de menor producción de CH₄, mayor degradabilidad y producción de ácido propiónico similar estadísticamente al tratamiento con yuca (raíz) quien obtuvo el mayor valor para este AGV y para la suma total de AGVs.

El consumo de materia seca, presentó significancia estadística en la predicción de la producción de metano de este meta-análisis y debe estar acompañada de otras variables, que se saben pueden afectar la producción de metano y que ayudarían a mejorar la predicción del modelo.

Recomendaciones

Toda la información utilizada de la composición de la dieta, parámetros productivos, de digestibilidad, y ruminales ayudaría a mejorar la predicción de la producción de metano, pero debido a la información faltante en los artículos revisados, muchos de estos datos no pudieron ser incluidos en las ecuaciones de predicción. Por ello se sugiere tener una amplia base de datos recopilados en el tiempo de las condiciones locales, en los sitios

de investigación donde se tengan las técnicas de medición: cámara respirométrica y/o SF₆, para realizar un meta-análisis posterior con más variables predictoras y que *a priori* se sabe que influyen en la producción de metano, y tener así un modelo predictor propio de cada región. Esto ayudaría en el cálculo de las opciones de mitigación y de cálculos en el inventario nacional de emisiones de metano.

En futuros estudios, se propone agrupar por el tipo de dieta para generar ecuaciones más específicas.