

Efecto de la concentración de proteína cruda en suplementos para vacas lecheras sobre la degradación de la materia seca *in vitro*

R R Noguera, J F Ramírez y S L Posada

Universidad de Antioquia - UdeA, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias - GRICA

Calle 70 No. 52-21, Apartado Aéreo 1226

[*ricnoguera@gmail.com*](mailto:ricnoguera@gmail.com)

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes niveles de proteína cruda (PC) en el suplemento de vacas lecheras sobre la degradación de la materia seca y producción de metano *in vitro*. Los tratamientos experimentales estuvieron constituidos por un alimento base y cinco diferentes suplementos concentrados que fueron formulados con 10 (PC10), 12 (PC12), 14 (PC14), 16 (PC16) y 18 % (PC18) de proteína cruda. Las materias primas empleadas para la formulación del suplemento fueron grano de maíz y torta de soja. El forraje utilizado fue pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinus* Hochst. ex Chiov.) con 42 días de rebrote. Los tratamientos experimentales estuvieron constituidos por 60% de pasto y 40% de suplemento concentrado. El proceso de incubación se realizó en frascos de vidrio con capacidad de 100 ml. Las variables evaluadas fueron: degradación *in vitro* de la materia seca (%), volumen de los gases acumulados, concentración de nitrógeno amoniacal, concentración de ácidos grasos volátiles y balance de la fermentación. Los datos se analizaron bajo el esquema de un modelo lineal mixto considerando como efectos fijos a los tratamientos y como efecto aleatorio el animal donador del inóculo. La prueba de comparación de medias de Tukey se empleó para establecer diferencias entre las medias de tratamientos a un nivel de significancia del 5%.

Los suplementos con 10 y 12% de PC provocaron una reducción del 4.8 y 3.6% en la degradación de la materia seca con respecto al tratamiento con 18% de PC. El volumen acumulado de gases, la producción de metano y la concentración de ácidos grasos volátiles no fueron influenciados por la concentración de PC en el suplemento. La concentración de nitrógeno amoniacal aumentó a una tasa de 0.056 mg/dL por cada unidad de incremento porcentual en el contenido de PC del suplemento. Una reducción en la concentración de PC del suplemento del 18 al 14% no tuvo efecto sobre la degradación *in vitro* de la materia seca. Los resultados de este experimento sugieren que es posible reducir el aporte de PC del suplemento sin afectar el proceso de fermentación ruminal, mejorando la eficiencia de utilización del nitrógeno por el animal y reduciendo el impacto de este elemento sobre el medio ambiente.

Palabras clave: *excreción de nitrógeno, proteína dietaria, rumiantes*

Effect of concentration of crude protein in supplements for dairy cows on degradation of dry matter *in vitro*

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of different levels of crude protein (CP) in the supplement to dairy cows on in vitro dry matter degradation. The experimental diets were constituted by a staple food and five different concentrated supplements which were formulated with 10 (PC10), 12 (PC12), 14 (PC14), 16 (PC16) and 18% (PC18) of crude protein. The raw materials used for the formulation of the supplement were grain corn and soybean meal. The forage used was Kikuyu grass (*Cenchrus clandestinum* Hochst. Ex Chiov.) with 42 days of regrowth. The experimental diets were composed of 60% grass and 40% concentrate supplement. The incubation process was carried out in glass jars with a capacity of 100 ml. The variables evaluated were: in vitro dry matter degradation (%), gases volume accumulated, ammonia, volatile fatty acids concentration and balance of fermentation. Data were analyzed under the scheme of a linear mixed model, considering as fixed effect the treatment and the inoculum donor animal as a random effect. Tukey test was used to establish differences between treatments ($p > 0.05$).

Supplementation with 10 and 12% CP caused a reduction of 4.8 and 3.6% in the dry matter degradation with respect to treatment with 18% CP. The cumulative volume of gases, methane production and the volatile fatty acids concentration were not influenced by the concentration of PC in the supplement. The ammonia concentration increased at a rate of 0.056 mg / dL per each unit of increase in the percentage of PC in the supplement. A reduction in the concentration of PC in the supplement from 18 to 14% had no effect on the dry matter degradation. The results of this experiment suggest it is possible reduce the protein in the supplement without affecting the ruminal fermentation process, improving the nitrogen efficiency of utilization by the animal, and reducing the impact of this element on the environment.

Key words: dietary protein, nitrogen excretion, ruminants

Introducción

El cambio climático originado por la actividad humana en el planeta es una preocupación a escala global. El crecimiento demográfico con la consecuente mayor demanda de productos y servicios, la industrialización, la deforestación y el creciente consumo de combustibles fósiles han sido responsabilizados por el cambio en los patrones climáticos. La producción ganadera no es ajena a este hecho y contribuye de manera significativa con la emisión de gases de efecto invernadero. Así, por ejemplo, el sector emite el 37 por ciento del metano antropógeno (oriundo de la fermentación ruminal), el 65 por ciento del óxido nitroso antropógeno (a partir del estiércol y la fertilización de praderas) y es responsable de casi las dos terceras partes (64 por ciento) de las emisiones antropógenas de amonio, las cuales contribuyen significativamente a la lluvia ácida y a la acidificación de los ecosistemas (FAO 2010).

En Colombia los sistemas especializados de producción del leche fundamentan la producción de forrajes en la aplicación de fertilizantes nitrogenados (principalmente urea) en dosis que superan los 400 kg/ha/año. Esta práctica busca incrementar la biomasa forrajera, la carga animal y la productividad por hectárea (Correa et al 2008). Sin embargo, estas altas dosis de fertilizante mineral, conllevan modificaciones en la calidad nutricional de las pasturas, principalmente incrementando las concentraciones de proteína cruda (PC) del pasto con valores que fluctúan entre 15.4 y 27.1% (Correa et al 2008). Por otra parte, el potencial genético de los animales para la producción de leche y sus altas demandas nutricionales hacen obligatoria la suplementación con concentrados. La industria de alimentos para animales en Colombia, ofrece suplementos para esta categoría animal con contenidos de proteína cruda que varían entre 16 y 20%. Dado que los rumiantes tienen baja eficiencia en la utilización del nitrógeno (25%) (Kohn et al 2005; Huhtanen et al 2009) y considerando los aportes de PC del forraje, es factible que los suplementos para vacas lecheras sean formulados con menores concentraciones de proteína y una igual o mayor densidad

energética, buscando aumentar la eficiencia de utilización del nitrógeno proveniente del forraje, incrementar la síntesis de proteína microbiana y reducir la cantidad de nitrógeno que es liberado al ambiente con la orina y las excretas.

La utilización eficiente y racional del nitrógeno en las dietas para vacas lecheras permitiría reducir el efecto contaminante.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes niveles de PC en el suplemento de vacas lecheras sobre la degradación de la materia seca y producción de metano *in vitro*.

Materiales y métodos

Este experimento fue realizado en laboratorio de nutrición animal NutriLab – Grica (Universidad de Antioquia, Medellín – Colombia).

Dietas experimentales

Los tratamientos experimentales estuvieron constituidos por un alimento base y cinco diferentes suplementos concentrados que fueron formulados con 10 (PC10), 12 (PC12), 14 (PC14), 16 (PC16) y 18 % (PC18) de proteína cruda. Las materias primas empleadas para la formulación del suplemento fueron grano de maíz y torta de soja, el nivel de PC del suplemento se ajustó variando la participación de la torta de soja en el suplemento. Como alimento base se utilizó pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinus* Hochst. ex Chiov.) con 42 días de rebrote (Tabla 1). Los tratamientos experimentales estuvieron constituidas por 60% de pasto y 40% de suplemento concentrado (Tabla 2).

Tabla 1. Composición química de los alimentos empleados

Componente	Alimentos		
	Kikuyo	Maíz	Torta Soja
MS, %	21.4	88.3	91.2
PB, % de la MS	22.3	7.2	39.5
FDN, % de la MS	54.9	9.6	14.9
FDA, % de la MS	23.4	2.3	10
Energía, Kcal/kg	4256	4442	4530
Ca, % de la MS	0.22	0.1	0.4
P, % de la MS	0.27	2.4	0.71

Tabla 2. Ingredientes y composición química de los suplementos y los sustratos

ítem	Tratamientos				
	PC10	PC12	PC14	PC16	PC18
Kikuyo, mg	300	300	300	300	300
Maiz, mg	183	170	158	146	133
Soja, mg	17	30	42	54	67
<i>Composición del suplemento, % de la MS</i>					
Proteína cruda	9.9	12.0	14.0	15.9	18.0
FDN	10.1	10.4	10.7	11.0	11.4
FDA	3.0	3.5	3.9	4.4	4.9
Energía, Kcal/kg	4449	4455	4460	4466	4471
Calcio	0.13	0.15	0.16	0.18	0.20
Fósforo	2.26	2.15	2.05	1.94	1.83
<i>Composición del sustrato (Kikuyo + suplemento), % de la MS</i>					
Proteína cruda, % de la MS	17.4	18.2	19.0	19.7	20.6
FDN	37.0	37.1	37.2	37.4	37.5
FDA	15.2	15.4	15.6	15.8	16.0
Energía, Kcal/kg	4333	4336	4338	4340	4342
Calcio	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Fósforo	1.1	1.0	1.0	0.9	0.9

¹ PC10, PC12, PC14, PC16, PC18= suplementos formulados con 10, 12, 14, 16 y 18% de proteína cruda.

Proceso de inoculación e incubación

El proceso de incubación se realizó en frascos de vidrio con capacidad de 100 ml. El día previo al inicio del experimento, dentro de cada frasco se pesaron 500 mg de cada una de los sustratos experimentales. El total de frascos empleados fue de 36, correspondiente con el siguiente cálculo: 5 tratamientos x 2 réplicas x 3 repeticiones (inóculos) + 6 frascos blanco (frascos que no contienen sustrato experimental).

El día del experimento, a cada frasco se le adicionó 45 ml de una solución tampón que contenía 9.8 g de NaHCO_3 , 4.65 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.57 g de KCl , 0.47 g de NaCl , 0.12 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 0.05 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ por cada litro de solución (McDougall 1948). Inmediatamente después los frascos fueron llevados a una estufa de ventilación forzada a 39° C para que alcanzaran esta temperatura antes de la inoculación con líquido ruminal.

El inóculo (líquido ruminal) se obtuvo de tres vacas secas de raza Holstein con cánula ruminal permanente y mantenidas en un sistema de pastoreo rotacional con pasto Kikuyo y suplementadas con un kilogramo de concentrado comercial. El líquido ruminal se colectó de forma manual y se almacenó en garrafas térmicas previamente calentadas a 39° C. En el laboratorio, el líquido ruminal fue filtrado a través de tres capas de gasa, puesto en baño maría a 39° C y gaseado continuamente con CO_2 .

Los frascos con el medio previamente calentado se inocularon con 5 ml de líquido ruminal, se saturaron con CO_2 , se taparon herméticamente con tapas de caucho y se mantuvieron en incubación por un periodo de 24 horas en estufa de ventilación forzada a temperatura constante (39° C).

Variables evaluadas

La degradación *in vitro* de la materia seca (DIVMS) expresada en porcentaje, se determinó por la relación entre la materia seca que desapareció durante el periodo de incubación y la cantidad de materia seca incubada al inicio del experimento.

El volumen de los gases acumulados en la parte superior de los frascos se determinó con un transductor de presión (Ashcroft ®). Las lecturas de presión en libras por pulgada cuadrada, se transformaron a unidades de volumen como descrito por Posada et al (2006).

Después de medir el volumen de gases en cada frasco, una muestra de esta mezcla gaseosa (100 μL) fue colectada mediante la utilización de una jeringa gastight (ThermoScientific®) e inyectada de forma manual en un cromatógrafo de gases como descrito por Posada et al (2014).

La concentración de nitrógeno amoniacal (NNH_3) se determinó en la fracción líquida de cada frasco de incubación, siguiendo la metodología descrita por Silva (1990).

Para la determinación de ácidos grasos volátiles (AGV), el líquido ruminal de cada frasco de incubación fue acidificado (con ácido sulfúrico 98% v/v hasta alcanzar un pH próximo a 2), centrifugado e inyectado en un cromatógrafo de gases (Thermo Trace GC Ultra, Thermo Scientific, USA). Las condiciones cromatográficas fueron descritas por Ramírez et al (2015).

Para elaborar el balance de la fermentación, las proporciones de los AGV se establecieron en términos de moles /100 moles de ácidos grasos, siguiendo la metodología descrita por Owens y Goetsch (1993) quienes plantean que sí las cantidades de los productos de la fermentación son

conocidos, es posible calcular la cantidad de carbohidratos que fue fermentada y cuanto dióxido de carbono (CO₂), CH₄ y ATP fueron producidos .

Análisis estadístico

Los datos se analizaron bajo el esquema de un modelo lineal mixto considerando como efectos fijos a los tratamientos y como efecto aleatorio el animal donador del inóculo. La prueba de comparación de medias de Tukey se empleó para establecer diferencias entre las medias de tratamientos a un nivel de significancia del 5%.

Resultados y discusión

La composición química del pasto Kikuyo y los suplementos son descritos en las Tablas 1 y 2. La DIVMS y el volumen acumulado de gases fue significativamente influenciado por el nivel de PC en la dieta (Figuras 1 y 2). Las menores degradaciones de la MS se registraron en los tratamientos con 10 y 12% de PC (57.9 y 58.6%, respectivamente). Los tratamientos con 14, 16 y 18% de PC mostraron degradaciones equivalentes ($p > 0.05$) con valores que fluctuaron entre 59.7 y 60.8%. En este trabajo, niveles del 14% de proteína cruda en el suplemento serían suficientes para mantener inalterada la degradación de la MS. A pesar de que los tratamientos con 10 y 12% de PC provocaron una reducción significativa en la degradación de la MS, esta fue de solo 2.9 y 2.2 unidades porcentuales con respecto al tratamiento con 18% de PC, respectivamente (Figura 1). Investigaciones evaluando diferentes niveles de PC (variando entre el 14 y 20% de la MS) en dietas para vacas lecheras (Broderick 2003; Broderick et al 1997; Christensen et al 1993; Olmos Colmenero et al 2006; Groff y Wu 2005; Agle et al 2010) no encontraron efecto del nivel de PC sobre la digestibilidad aparente de la MS, confirmando los resultados encontrados en este experimento.

Ha y Kennelly (1984) manifiestan que la concentración de N-NH₃ limita la digestibilidad de la MS cuando la dieta de vacas lecheras contiene menos del 13% de PC. Por otra parte, Satter (1982) sostiene que la optima concentración ruminal de NNH₃ para una máxima síntesis de proteína microbiana debería ser cercana a los 5mg/dL de fluido ruminal y esta concentración podría ser alcanzada con dietas que contienen entre 13 y 14% de PC. En este experimento a pesar de que fueron formulados suplementos con 10 y 12% de PC que estarían por debajo del valor crítico establecido por Ha y Kennelly (1984) es necesario recordar que el 60% de la mezcla estuvo constituida por pasto Kikuyo con 22.3% de PC, razón por la cual los contenidos de PC de la mezcla completa (Kikuyo + suplemento) variaron entre 17.4% y 20.6%. En estas condiciones el contenido de N no habría limitado la digestión de la MS.

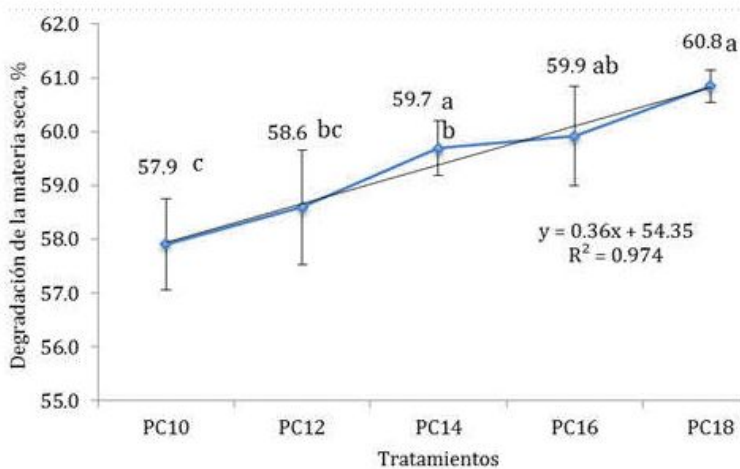


Figura 1. Degradación *in vitro* de la materia seca del pasto Kikuyo incubado con suplementos que variaron en su contenido de proteína cruda. Letras minúsculas diferentes que acompañan a las medias de tratamiento indican diferencias estadísticas entre los mismos ($p < 0.05$)

No se observa una clara tendencia en la producción acumulada de gases de la fermentación en respuesta a los niveles crecientes de proteína en el suplemento. El menor volumen de gas fue para el tratamiento con 10% de PC con 132.8 ml, valor estadísticamente diferente de los volúmenes registrados para los tratamientos con 12, 14, 16 y 18% de PC. La producción de CH₄ no difirió entre tratamientos fluctuando entre 47.4 y 52.3 ml/g de materia seca degradada (Figura 2).

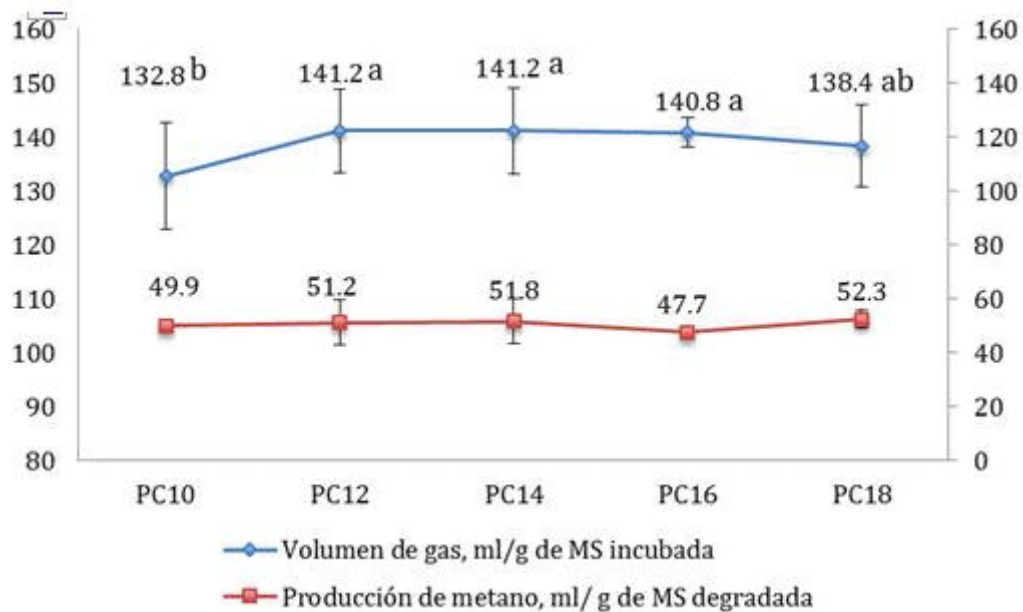


Figura 2. Volumen acumulado de gases y producción de metano del pasto Kikuyo incubado con suplementos que variaron en su contenido de proteína cruda.

Letras minúsculas diferentes que acompañan a las medias de tratamiento indican diferencias estadísticas entre los mismos ($p < 0.05$)

El contenido de PC en los suplementos no tuvo influencia sobre la producción de AGV ($p > 0.05$), lo que sugiere equivalentes condiciones de fermentación entre tratamientos. Esta situación era esperada dada la semejanza en la composición química de los tratamientos (Tabla 2). Agle et al (2010) evaluando niveles crecientes de proteína cruda (12.9, 13.4 y 15.4%) en la dieta de vacas lecheras sobre la fermentación ruminal y concentración de NH_3 en las heces de vacas lecheras encontraron que la concentración de PC no tuvo efecto sobre la producción de CH_4 y AGV. Iguales resultados a los reportados por Agle y colaboradores, son descritos por Hristov et al 2004, Reynal y Broderick 2005 y Christensen et al 1993.

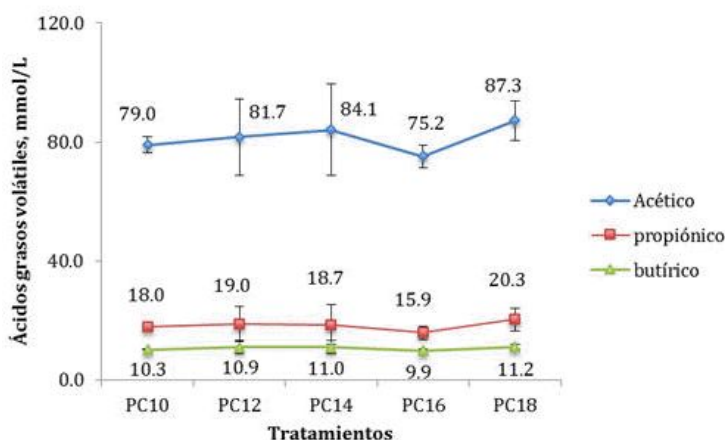


Figura 3. Ácidos grasos volátiles del pasto Kikuyo incubado con suplementos que variaron en su contenido de proteína cruda.

Letras minúsculas diferentes que acompañan a las medias de tratamiento indican diferencias estadísticas entre los mismos ($p < 0.05$)

La concentración de NNH_3 en el ambiente de fermentación se incrementó de forma lineal ($p < 0.05$) con el aumento del nivel de PC en el suplemento (Figura 4). La regresión entre el contenido de NNH_3 y PC muestra que por cada incremento de una unidad porcentual en el contenido de PC el NNH_3 se incrementa en 0.056 mg/dL.

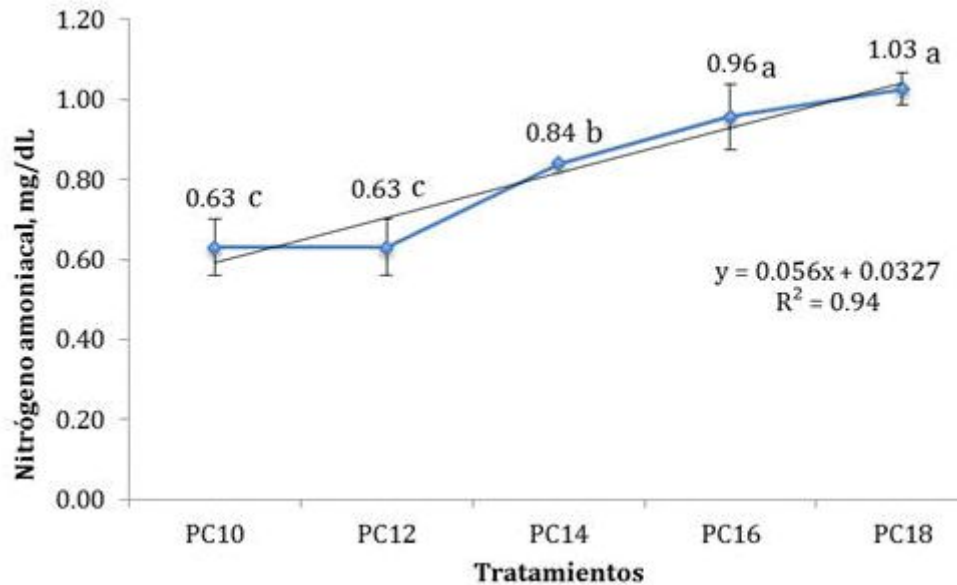


Figura 4. Concentración de nitrógeno amoniacal del pasto Kikuyo incubado con suplementos que variaron en su contenido de proteína cruda.

Letras minúsculas diferentes que acompañan a las medias de tratamiento indican diferencias estadísticas entre los mismos ($p < 0.05$)

Los parámetros de la fermentación calculados a partir de las proporciones molares de los AGV producidos en un sistema de fermentación *in vitro* son presentados en la Tabla 3. No se registraron diferencias estadísticas entre parámetros, indicando condiciones de fermentación equivalente a pesar de que los suplementos variaron en su contenido de PC.

El cálculo estequiométrico basado en las proporciones molares de los AGV permite explicar en gran medida los resultados observados. La entrada de glucosa (Mcal) fue muy similar entre tratamientos, indicando igual proporción de sustrato disponible para la fermentación.

En este trabajo, reducir los contenidos de PC del suplemento al 14% no provocaron efectos negativos sobre las variables evaluadas, indicando que es posible reducir el aporte de PC en dietas para vacas lecheras buscando minimizar la excreción de nitrógeno al ambiente. Varios estudios (Leonardi et al 2003; Wattiaux and Karg 2004) comparando niveles altos y bajos de PC en la dieta sugieren que es posible reducir el contenido de PC del 18% a 16.5% sin afectar la producción de leche. Sin embargo, otros estudios han reportado disminución en la producción de leche cuando la proteína de la dieta se redujo del 17.4 al 15.2% (Kalscheur et al 1999) y del 18.4 al 15.1% (Broderick 2003). La proteína metabolizable corresponde a la sumatoria de la proteína microbiana y la proteína no degradable digestible en el intestino delgado. La disponibilidad de PC y energía a nivel ruminal determinan la síntesis de proteína microbiana y por tanto el aporte de proteína metabolizable. En este sentido, la disparidad en resultados entre los estudios citados indican que la PC de la dieta solo puede ser reducida si los requerimientos de proteína metabolizable del animal son cubiertos.

Cuando un Y_{ATP} (g de células microbianas secas/mol de ATP) de 10 fue considerado, la síntesis de proteína microbiana entre tratamientos varió entre 2574 y 2937 g/día ($p > 0.05$), indicando que los aportes de PC y energía no limitaron la síntesis de proteína microbiana.

Los productores ofrecen dietas con altos contenidos de PC con el propósito de obtener un adecuado aporte de proteína metabolizable que permita maximizar la producción de leche. Sin embargo, varios estudios reportan que incrementos en la proteína del 16 al 19% no provocan aumentos en la producción de leche o mudanzas en la síntesis de proteína láctea (Cunningham et al 1996; Broderick 2003; Leonardi et al 2003).

Es bien conocido el hecho de que cuando se incrementa el contenido de PC del al dieta, también se incrementa la cantidad de proteína degradable en el rumen (PDR). Si la PDR excede las necesidades de los microorganismos gran cantidad de $N-NH_3$ es producido, absorbido por el animal, convertido en urea en hígado y excretado en la orina. Los excesos de nitrógeno afectan el desempeño reproductivo del rebaño, posiblemente por aumentar las concentraciones de urea en los fluidos del tracto urogenital (Carroll et al 1988; Ferguson and Chalupa 1989; Jordan et al 1983). Al mismo tiempo pueden incrementar los requerimientos de energía (13.3 Kcal de energía digestible/g de exceso de nitrógeno (NRC 1989), disminuir el retorno económico puesto que la proteína es un ingrediente costoso en la dieta e impactar de forma negativa al medio ambiente.

Tabla 3. Balance de la fermentación ruminal *in vitro* del pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinus* Hochst. ex Chiov.) incubado con suplementos que variaron en su contenido de proteína cruda

Ítem	Tratamientos ¹					ES
	PC10	PC12	PC14	PC16	PC18	
Proporción molar AGV						
Acetato, moles/100 moles	68.9	71.2	73.4	65.5	76.1	4.8
Propionato, moles/100 moles	19.1	19.1	18.4	17.8	19.3	1.2
Butirato, moles/100 moles	13.1	14.0	14.1	12.7	14.4	1.0
Valores calculados						
Glucosa Utilizada, moles	57.1	59.2	59.9	54.4	62.1	3.9
Producción de gas (CH ₄ + CO ₂), moles	95.1	99.2	101.5	91.0	104.9	6.8
CH ₄ , moles	36.2	37.8	39.1	34.7	40.4	2.7
CO ₂ , moles	58.9	61.4	62.4	56.3	64.4	4.1
Producción de ATP, moles	271	280	283	257	294	18.1
Energía						
Entrada						
Glucosa, Mcal	38.5	39.8	40.3	36.6	41.8	2.6
Salida						
AGV, Mcal	28.3	29.3	29.5	26.9	30.6	1.9
CH ₄ , Mcal	7.6	8.0	8.2	7.3	8.5	0.6
ATP, Mcal (7 Kcal/mol)	1.9	2.0	2.0	1.8	2.1	0.1
Calor, Mcal	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.04
Producción potencial microbiana						
Celulas secas, g ($Y_{ATP} = 10$)	2708	2796	2831	2574	2937	181
Proteína, g (60% de MS)	1625	1677	1699	1544	1762	109
g proteína/100 g almidon fermentado	17.6	17.5	17.5	17.5	17.5	0.03
ATP / mol de glucosa	4.7	4.7	4.7	4.7	4.7	0.01
Energía perdida con la fermentación						
Metano, % de la energía inicial	19.9	20.0	20.4	20.0	20.4	0.3
ATP, % de la energía inicial	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9	0.01
Calor, % de la energía inicial	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	0.01
Calor + ATP, % de la energía inicial	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	0.001
CH ₄ + Calor+ ATP, % de la energía inicial	26.3	26.5	26.9	26.4	26.8	0.3
Tasa no glucogénica	5.0	5.2	5.5	5.1	5.4	0.2

¹ Las medias de tratamientos para todas las variables analizadas en esta tabla no difieren estadísticamente ($p > 0.05$)

Conclusiones

- Una reducción en la concentración de PC del suplemento del 18 al 14% no tuvo efecto sobre la degradación *in vitro* de la materia seca, cuando el sustrato consistía de 60% de pasto Kikuyo con 23% de proteína cruda en la MS.
- Los resultados de este experimento sugieren que es posible reducir el aporte de PC del suplemento, siempre y cuando el forraje realice un alto aporte de proteína degradable en el rumen y la energía en la dieta no sea un limitante para la síntesis de proteína microbiana.

Agradecimientos

Este trabajo hace parte del proyecto “Fortalecimiento de la producción de la cadena láctea del distrito Norte Antioqueño”, contrato No. 2013AS180031, financiado con recursos del Sistema General de Regalías – SGR, el Comité para el Desarrollo de la Investigación CODI (Estrategia para la Sostenibilidad 2016 grupo GRICA) y COLCIENCIAS 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”.

Bibliografía

Agle M, Hristov A N, Zaman S, Schneider C, Ndegwa P and Vaddella V K 2010 The effects of ruminally degraded protein on rumen fermentation and ammonia losses from manure in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93: 1625 – 1637.

[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(10\)00136-0/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(10)00136-0/pdf)

Broderick G A and Clayton M K 1997 A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science*, 80:2964-2971. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(97\)76262-3/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(97)76262-3/pdf)

Broderick G A 2003 Effect of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86:1370–1381.

[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(03\)73721-7/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(03)73721-7/pdf)

Carroll D J, Barton B A, Anderson G W and Smith R D 1988 Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 71:3470 – 3481. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(88\)79953-1/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(88)79953-1/pdf)

Christensen R A, Cameron M R, Klusmeyer T H, Elliott J P, Clark J H, Nelson D R and Yu Y 1993 Influence of amount and degradability of dietary protein on nitrogen utilization by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 76:3497 – 3513. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(93\)77689-4/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(93)77689-4/pdf)

Correa H J, Pabón M L y 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. *LivestockResearchfor Rural Development*, 20 (4), Article # 59 <http://www.lrrd.org/lrrd20/4/corra20059.htm>

Cunningham K D, Cecava M J, Johnson T R and Ludden P A 1996 Influence of source and amount of dietary protein on milk yield by cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 79:620–630. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(96\)76407-X/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(96)76407-X/pdf)

FAO (Food and Agriculture Organization) 2010 Greenhouse Gas Emissions from the Dairy Sector: A Life Cycle Assessment. Rome, Italy. <http://www.fao.org/docrep/012/k7930e/k7930e00.pdf>

Ferguson J D and Chalupa W 1989 Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 72:746 – 766. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(89\)79168-2/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(89)79168-2/pdf)

Groff E B and Wu Z 2005 Milk production and nitrogen excretion of dairy cows fed different amounts of protein and varying proportions of alfalfa and corn silage. *Journal of Dairy Science*, 88:3619–3632. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(05\)73047-2/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(05)73047-2/pdf)

Ha J K and Kennelly J J 1984 Effect of protein on nutrient digestion and milk production by holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 67: 2302 – 2312. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(84\)81578-7/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(84)81578-7/pdf)

Hristov A N, Etter R P, Ropp J K and Grandeen K L 2004 Effect of dietary crude protein level and degradability on ruminal fermentation and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *Journal of Animal Science*, 82:3219–3229.

Huhtanen P and Hristov A N 2009 A meta-analysis of the effects of protein concentration and degradability on milk protein yield and milk N efficiency in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92:3222–3232. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(09\)70639-3/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(09)70639-3/pdf)

Jordan E R, Chapman T E, Holtan D W and Swanson L W 1983 Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 66:1854 - 1862. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(83\)82023-2/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(83)82023-2/pdf)

Kalscheur K F, Vandersall J H, Erdman R A, Kohn R A and Russek-Cohen E 1999 Effects of dietary crude protein concentration and degradability on milk production responses of early, mid, and late lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82: 545-554. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(99\)75266-5/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(99)75266-5/pdf)

Kohn R A, Dinneen M M and Russek-Cohen E 2005 Using blood urea nitrogen to predict nitrogen excretion and efficiency of nitrogen utilization in cattle, sheep, goats, horses, pigs, and rats. *Journal of Animal Science*, 83: 879-889. <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/pdfs/83/4/0830879>

Leonardi C, Stevenson M and Armentano L E 2003 Effect of two levels of crude protein and methionine supplementation on performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86:4033–4042. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(03\)74014-4/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(03)74014-4/pdf)

McDougall E I 1948 Studies on ruminant saliva. I. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemistry Journal* 70: 99- 109 <http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1274641&blobtype=pdf>

NRC - National Research Council 1989 Nutrient requirements of Dairy Cattle. 6th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.

Olmos Colmenero J J and Broderick G A 2006 Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89:1704–1712. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(06\)72238-X/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(06)72238-X/pdf)

Owens F N and Goetsch A L 1993 Fermentación ruminal. In: Church D C (Ed.) *El rumiante fisiología digestiva y nutrición*. Zaragoza: Acribia, p.159-190.

Posada S L, Noguera R y Bolívar D 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://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/view/246>

Posada S L, Ramírez J J y Noguera R R 2014 Producción de metano y digestibilidad de mezclas kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) - papa (*Solanum tuberosum*). Agronomía Mesoamericana 25: 141-150. <http://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/article/view/14214/13513>

Ramírez F, Posada S L y Noguera R R 2015 Effect of lovastatin on in vitro methane production and dry matter digestibility of kikuyu grass (*Cenchrus clandestinus*). Revista Ces Medicina Veterinaria y Zootecnia, 10 : 111 – 121. <http://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/3644/2452>

Reynal S M and Broderick G A 2005 Effect of dietary level of rumen-degraded protein on production and nitrogen metabolism in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 88:4045–4064.

Satter L D 1982 A metabolizable protein system keyed to ruminal ammonia concentration – The Wisconsin System. Owens F N (Ed.) Protein Requirements of Cattle: Oklahoma Agric. P. 245 – 264.

Silva D J 1990 Análise de alimentos. Métodos químicos e biológicos. Universidad Federal de Viçosa. Minas Gerais.

Wattiaux M A and Karg K L 2004 Protein level for alfalfa and corn silage-based diets: II. Nitrogen balance and manure characteristics. Journal of Dairy Science, 87: 3492-3502. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(04\)73484-0/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(04)73484-0/pdf)

Received 28 April 2016; Accepted 14 July 2016; Published 1 August 2016