

**Especies forrajeras, arbóreas y arbustivas con efectos potenciales sobre la
disminución de las emisiones de metano en bovinos.**

MONOGRAFIA

Presentado por:

JUAN PABLO NARVAEZ HERRERA

Asesor

WILMER ALFONSO CUERVO VIVAS

Zootecnista, Esp. MSc.

**Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD
Escuela de Ciencias Agrícolas Pecuarias y del Medio Ambiente
- ECAPMA**

Especialización en nutrición animal sostenible

2017

Nota de aceptación

Firma presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Resumen

El propósito de este documento, fue documentar la influencia de los factores composicionales presentes en algunas especies forrajeras, arbóreas y arbustivas empleadas en la alimentación animal, con el fin de conocer sus efectos promisorios sobre la disminución de las emisiones de metano.

En Colombia la ganadería bovina se ha caracterizado por ser una actividad extractiva, donde la mayor parte del área utilizada para pastizales y potreros es producto de la expansión de la frontera agrícola, afectándose el equilibrio en términos ambientales, productivos y socioeconómicos. Se considera históricamente que es la actividad económica más importante del sector agropecuario, sin embargo, el rezago tecnológico y el arraigo cultural de algunos productores no ha permitido desarrollarse. La generación de gases con efecto invernadero en los animales rumiantes, tiene numerosos factores los cuales pueden estar relacionados con la especie animal, así como con el tipo de alimentación y las características de la dieta, los cuales van a determinar los patrones de fermentación ruminal y de producción de gases por parte de los bovinos, ocasionando pérdidas energéticas que derivan en pérdidas económicas para los ganaderos de la región.

Por tal motivo el presente trabajo propone la recopilación de algunas especies forrajeras, arbóreas y arbustivas con potencial sobre la disminución de las emisiones de metano en ganado bovino, para que el productor lo utilice como herramienta alternativa que además de mejorar sus índices productivos, podrá dar un componente de sostenibilidad ambiental a sus unidades de producción, mediante la implementación de las especies aquí mencionadas, como banco de proteína, cercas vivas o arboles dispersos en las praderas, dentro de un sistema silvopastoril en pro de mejorar las características y la eficiencia de la dieta como también conservar y preservar el medio ambiente.

Abstract

The aim for this paper was documented in the influence of compositional factors on some species of shrub, tree and bush used in animal feed, in order to know its promising effects on the reduction of methane emissions.

In Colombia cattle farming has been characterized by an extractive activity, where most of the area is used for pastures and products of the expansion of the agricultural frontier, affecting the balance in environmental, productive and socioeconomic terms. Historically it is considered the most important economic activity of the agricultural sector, however, the technological backwardness and the cultural roots of some producers have not developed.

The generation of greenhouse gases in ruminant animals has many factors the animals may be related to the animal species, as well as to the type of feed and the characteristics of the diet, which to determine the ruminal fermentation patterns and De Production of gases by the cattle, causing energy losses that lead to economic losses for the cattlemen of the region.

For this reason the present work proposes the compilation of some forage species, trees and shrubs with potential on the reduction of methane emissions in cattle, for the producer to use as an alternative tool that besides improving their productive indexes, a component Of environmental sustainability to their production units, through the implementation of the species mentioned above, such as the protein bank, live cells or trees dispersed in the prairies, within a silvopastoral system in order to improve the characteristics and efficiency of the Diet as well as conversing and preserving the environment.

Índice general

Introducción	8
Cuerpo del trabajo	10
1. Metano ruminal.....	10
1.1. Metanogénesis y poblaciones ruminales.....	10
1.2. Producción de metano en el aparato digestivo del rumiante.....	12
2. Impacto ambiental del metano ruminal	13
2.1. Factores que determinan la producción de metano	15
3. Factores dietarios que influyen en la metanogénesis	16
3.1. Características físicas del alimento	17
3.1.1. Tamaño de partícula	17
3.1.2. Nivel de humedad	18
3.2. Características químicas del alimento.....	18
3.2.1. Contenido de proteína.....	18
3.2.2. Contenido de Fibra	19
3.2.3. Contenido de Materia Orgánica.....	20
3.2.4. Contenido de Carbohidratos no Estructurales	20
3.2.5. Contenido de Taninos.....	21
3.3. Efecto de las dietas forrajeras tropicales en las emisiones de metano	23
3.4. Metabolitos secundarios para la mitigación de la metanogénesis	24
3.4.1. Efecto de las saponinas sobre la fermentación ruminal	25
3.4.2. Efecto de los taninos sobre la fermentación ruminal.....	26
3.4.3. Efecto de los aceites esenciales sobre la fermentación ruminal.....	29
3.4.4. Efecto de los flavonoides sobre la fermentación ruminal.....	30
4. Factores animales ligados a la metanogénesis.....	31
4.1.1. Factores ligados a la edad del animal.	31
4.1.2. Factores ligados a la especie animal.....	32
4.1.3. Factores ligados al estado fisiológico del animal.....	32
4.2.2. Factores ligados al procesamiento de los forrajes	34

5.	Especies vegetales utilizadas para la mitigación de la metanogénesis ruminal	34
5.1.	Especies forrajeras.....	35
5.1.1.	Lotus corniculatus.....	36
5.1.2	Pennisetum clandestinum.....	39
5.1.3.	Lolium multiflorum.....	43
5.2.	Especies arbustivas.....	45
5.2.1.	Thitonia diversifolia	45
5.2.2.	Leucaena leucocephala.....	50
5.2.3.	Gliricidia sepium	53
5.3	Especies arbóreas	55
5.3.1.	Sapindus saponaria.....	55
5.3.2.	Morus alba.....	57
5.3.3.	Guazuma ulmifolia	61
6.	Metodologías para la determinación de producción y emisiones de metano generado por la ganadería bovina.....	63
6.1.	Técnicas de medición	64
6.1.1.	Técnicas cerradas	64
6.1.2.	Técnicas con trazadores.....	64
6.1.3.	Modelos de predicción de las emisiones de metano en rumiantes.....	65
6.2.	Ecuaciones de predicción.....	66
6.3.	Métodos fermentativos In vitro.....	67
6.4.	Rusitec (Rumen Artificial).....	68
6.5.	Técnica In vitro de producción de gases.....	70
7.	Conclusiones	72
8.	Recomendaciones.....	75
9.	Bibliografía	76

Índice de tablas y figuras

Introducción	8
Tabla 1. Bacterias Metanogénicas	11
Figura 1. Fermentación de los constituyentes del alimento en los compartimentos digestivos de los rumiantes, dando lugar a la formación de metano.	12
Tabla 2. Potencial de calentamiento global (PCG) de diferentes gases con efecto invernadero.	14
Figura 2. Principales rutas para la producción de CH ₄ en el rumen. Tomado de Ramírez et al (2014)	16
Figura 3. Estructura química de los taninos condensados.	27
Figura 4. Estructura química de los taninos hidrolizables.	28
Figura 5. Balance de la fermentación de azúcares en el rumen según el tipo de ácido graso volátil producido.	33
Tabla. 3. Producción de metano (Kcal de CH ₄ /100 Kcal de alimento suministrado) en relación con la digestibilidad aparente del forraje y de su tamaño de molienda.....	34
Figura 6. Trébol pata de pájaro (<i>Lotus corniculatus</i>)	37
Figura 7. Pasto Kikuyo (<i>Pennisetum clandestinum</i>)	40
Figura 8. Pasto Ryegrass (<i>Lolium multiflorum</i>)	44
Figura 9. Botón de oro (<i>Thitonia diversifolia</i>).....	46
Figura 10. Leucaena (<i>Leucaena leucocephala</i>)	51
Figura 11. Matarratón (<i>Gliricidia sepium</i>)	53
Figura 12. Jaboncillo (<i>Sapindus saponaria</i>)	56
Figura 13. Morera (<i>Morus alba</i>)	58
Figura 14. Guazimo (<i>Guazuma ulmifolia</i>).....	62
Figura 15. Cánula ruminal en bovinos.	68
Figura 16. Montaje para la técnica In vitro de producción de gases.....	70
Figura 17. Medición de la presión de gas acumulado por medio de la técnica In vitro de producción de gases.	71

Introducción

La presente monografía pretende responder la siguiente pregunta: ¿Qué factores composicionales de algunas especies forrajeras, arbóreas y arbustivas, inciden sobre la reducción de la metanogénesis ruminal en bovinos?

Teniendo en cuenta el anterior cuestionamiento, conocemos que los cambios en el clima de la tierra a través del tiempo fueron y son producidos por diversos procesos naturales que afectan al sistema climático o alguno de sus componentes. Desde que en 2006 se publicara el informe de la FAO "Livestock Long Shadow" el cual afirma que el 18% de los gases de efecto invernadero (GEI) a nivel mundial son consecuencia de la ganadería se ha producido un bombardeo mediático que ha repercutido en el sector.

Si se trata de buscar el lado negativo de la ganadería, más aún en zonas tropicales como lo es Colombia, se puede considerar que los sistemas de producción ganaderos son causantes de actividades erosivas del suelo, disminuyendo la fertilidad y por ende la productividad; y donde el incremento de la frontera agrícola para la implementación de monocultivos forrajeros ha ocasionado también una pérdida de la biodiversidad afectando en gran medida el equilibrio del ecosistema.

Cabe considerar que en una época donde la población creciente demanda de fuentes alimenticias de buena calidad nutricional, los productos obtenidos de los bovinos como carne, leche y sus derivados se convierten en una opción básica en busca de satisfacer las necesidades nutricionales y favorecer la seguridad alimentaria de los habitantes.

En Colombia, según la Unidad de Planificación Rural Agropecuaria (UPRA) para el año 2016 se tenía calculado que de 114 millones de hectáreas con las que cuenta

el país, 26 millones tienen posibilidades para la producción agrícola, pecuaria y forestal, y solo se produce en 6,3 millones de hectáreas. De los suelos netamente agrícolas, que son 11,3 millones de hectáreas, solo se aprovecha el 35 por ciento. En contraste, la tierra con vocación ganadera y dedicada a las actividades de pastoreo asciende a 38 millones de hectáreas en todo el país.

Sin embargo, en el trópico el pastoreo de forrajes incluye el consumo de especies de baja calidad nutritiva, avanzado estado de maduración y alto contenido lignocelulósico. Forrajes con alto contenido de fibra indigerible tienen un tiempo de retención más prolongado en el rumen y al ser digeridos por bacterias ruminales generan una mayor cantidad de ácido acético y ácido butírico, en cuyas vías metabólicas se genera como desecho el metano, que es uno de los gases de efecto invernadero.

No obstante, existen especies forrajeras, arbustivas e incluso arbóreas que pueden llegar a reducir las emisiones de metano en bovinos, debido a compuestos metabólicos propios de las plantas, así como también existen técnicas de inclusión de aditivos y suplementos nutricionales en la dieta que cumplen la misma función, en aras de disminuir las emisiones de gases con efecto invernadero desde la perspectiva del calentamiento global.

Por tal razón el presente documento, tiene como propósito enfatizar en cuáles son las principales especies de forrajes, arbustos y árboles que disminuyen la emisión de metano en bovinos y cuáles son los factores que influyen en dicha mitigación.

Cuerpo del trabajo

1. Metano ruminal.

Los rumiantes tienen la característica de eliminar los gases generados por medio del eructo, la producción de metano se da cuando la dieta de los bovinos cambia de consumir alimentos líquidos (leche, lactoreemplazador) a alimentos sólidos (forrajes, alimentos fibrosos), aproximadamente a las cuatro o cinco semanas de vida. La fermentación de dichos alimentos dependiendo del tipo y calidad composicional, se da a nivel de rumen y retículo produciendo cierto tipo de gases, entre ellos el metano.

Según Giraldo Parra (2013), los bovinos emiten metano debido a que, en su proceso digestivo, que ocurre bajo condiciones anaeróbicas, participan diferentes tipos de bacterias. Éstas, degradan la celulosa y hemicelulosa ingeridas y la transforman en glucosa, que se fermenta luego hasta ácido acético y se reduce el dióxido de carbono, formando metano durante el proceso.

McCaughey *et al* (1999), reportan que el 87% de la producción de metano se da en el rumen, y un 13% en el tracto digestivo posterior (intestino grueso, ciego y colon). De este último, aproximadamente el 89% es absorbido hacia la sangre y expirado a través de los pulmones. Esto indica que cerca del 98% del total de metano producido por los rumiantes puede ser expirado a través de la boca y los orificios nasales.

1.1. Metanogénesis y poblaciones ruminales

El metano entérico es un producto de la fermentación anaeróbica, resultado de un complejo sistema simbiótico entre diferentes grupos microbiales presentes a lo largo del tracto digestivo del rumiante (Van Soest, 1994).

Los rumiantes en el retículo rumen alojan una población microbiana muy diversa, la cual está constituida por microorganismos encargados de fermentar el alimento y producir ácidos grasos volátiles (AGV), que son absorbidos a través del epitelio ruminal, sirviendo como fuente de energía para el bovino (hospedero), en el mismo proceso fermentativo se obtienen otros productos como dióxido de carbono (CO₂) e hidrógeno (H₂) que no son utilizados por el rumiante, pero van a servir como sustrato para un grupo particular de microorganismos pertenecientes al grupo procariota sub grupo Archaea, tabla 1. Los cuales viven en medios estrictamente anaerobios y obtienen energía mediante la producción de metano, como estrategia metabólica para obtener la energía necesaria para su crecimiento.

Tabla 1. Bacterias Metanogénicas

BACTERIA	SUSTRATO
Methanosarcina barkerii	metanol, metilamina y acetato
Methanobrevibacter ruminantium	Metanogenos
Methanobacterium formicum	Metanogenos
Methanomicrobium mobile	Metanogenos

Adaptado de Church (1993).

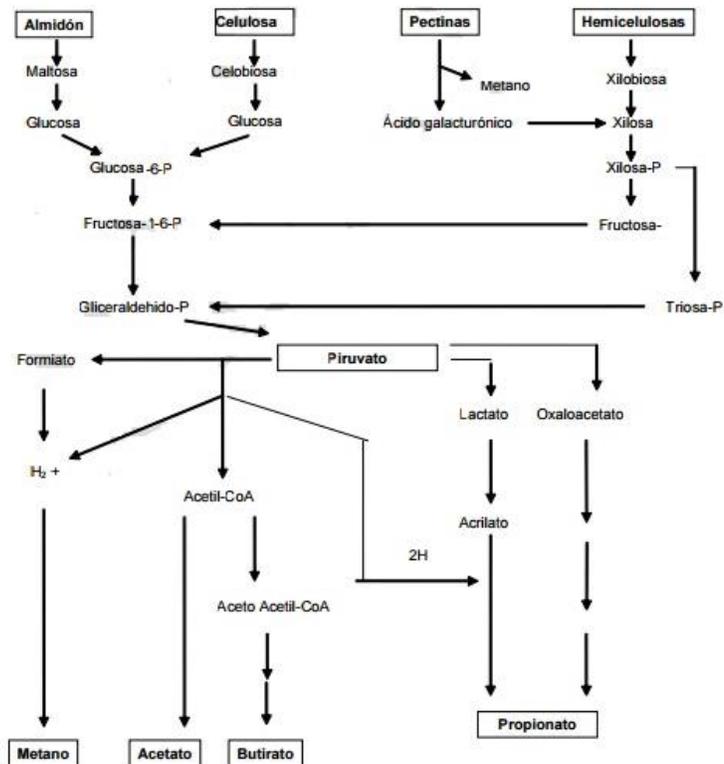
Afirma Ramírez *et al* (2014), que la actividad metanogénica contribuye notablemente al sostenimiento de la fermentación ruminal, ya que mantiene una baja concentración de H₂. Sin embargo, la metanogénesis representa pérdida de energía para el rumiante y constituye una fuente de emisión de gases de efecto invernadero (GEI).

1.2. Producción de metano en el aparato digestivo del rumiante.

La digestión microbiana de los carbohidratos de la dieta a nivel de rumen deriva en varios productos, siendo principalmente ácidos grasos volátiles como acetato, propionato y butirato, los obtenidos.

Beauchemin *et al* (2008), afirman que en el proceso de síntesis de acetato y butirato se producen moléculas de hidrógeno las cuales deben ser removidas para mantener la eficiencia energética durante el proceso de fermentación anaerobia, y donde las principales vías de remoción de hidrógeno se hacen a través de la biohidrogenación de ácidos grasos insaturados, la formación de ácido propiónico y de metano.

Figura 1. Fermentación de los constituyentes del alimento en los compartimentos digestivos de los rumiantes, dando lugar a la formación de metano.



Adaptado de: Czerkawski, 1986.

Sin embargo, la tercera parte del alimento ingerido pasa sin fermentar del rumen y retículo al omaso y abomaso; este alimento acarrea al abomaso una parte importante de la flora ruminal. En abomaso y duodeno tiene lugar una digestión similar a la que ocurre en animales monogástricos. A nivel de abomaso continúa la absorción de ácidos grasos volátiles y amoníaco, así como pequeñas cantidades de otros nutrientes; en el duodeno se absorben los nutrientes que se liberan al digerirse tanto microorganismos como el alimento que ha escapado a la fermentación ruminal. Hill *et al* (2006).

El alimento no digerido en el abomaso y duodeno pasa al intestino grueso, donde parte de los nutrientes son fermentados por la flora microbiana del ciego y colon, y el resto es excretado en las heces.

2. Impacto ambiental del metano ruminal

Según Jhonson y Jhonson (1995), el cambio climático global es una gran amenaza a la que se enfrenta nuestro planeta. Se estima que como resultado de este cambio en los patrones térmicos la temperatura de la Tierra podría incrementarse en 3°C, transformándola en un lugar muy diferente al que se conoce.

De esta manera se considera que la agricultura y la producción pecuaria específicamente la ganadería, contribuyen considerablemente a las emisiones de metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂) y óxido nitroso (N₂O) a la atmósfera. El aumento de las concentraciones de estos gases provoca un calentamiento de la superficie terrestre y la destrucción de la capa de ozono (Primavesi *et al*, 2004).

Es por esta razón que los animales rumiantes son considerados grandes contribuyentes a dicho calentamiento, y a la reducción de la capa de ozono por la liberación de altas cantidades de gases a la atmósfera, principalmente metano y gas carbónico; el primero con un efecto 21 veces superior sobre el segundo lo que ha

llevado en los últimos años a diversas organizaciones ambientalistas y proteccionistas a satanizar la actividad ganadera (Preston y Leng, 1989).

Para Van Soest (1994), existen también diferencias notables entre estos gases en cuanto a su vida media en la atmosfera, que es notablemente más corta para el gas metano (10 – 20 años) que para el CO₂ (50 – 200 años) y el óxido nitroso (100 – 150 años). Como consecuencia, se ha enfatizado el interés en priorizar la actuación sobre las emisiones de metano, por tener una repercusión más rápida en la reducción del efecto invernadero.

Tabla 2. Potencial de calentamiento global (PCG) de diferentes gases con efecto invernadero.

Gas	PCG
Dióxido de carbono (CO ₂)	1
Metano (CH ₄)	21
Óxido Nitroso (N ₂ O)	310
Clorofluorcarbonatos (CFC)	140 – 11.700

Fuente: Hacala, (2006).

Además, es importante considerar que en el informe denominado *Balance Mundial del Metano 2016*, se revela que después de años de estabilización de las emisiones, desde hace una década no han dejado de crecer, lo que está provocando su mayor concentración atmosférica. En el documento se afirma que hasta 2006 las emisiones eran de apenas 0,5 ppm al año, y en 2015 el ritmo de aumento de la concentración del gas fue 20 veces mayor. En total, desde 2012 se han liberado a la atmósfera aproximadamente 558 millones de toneladas de metano anuales, siendo tan alta la cantidad que el ciclo natural de remoción del gas ya no puede absorberlo.

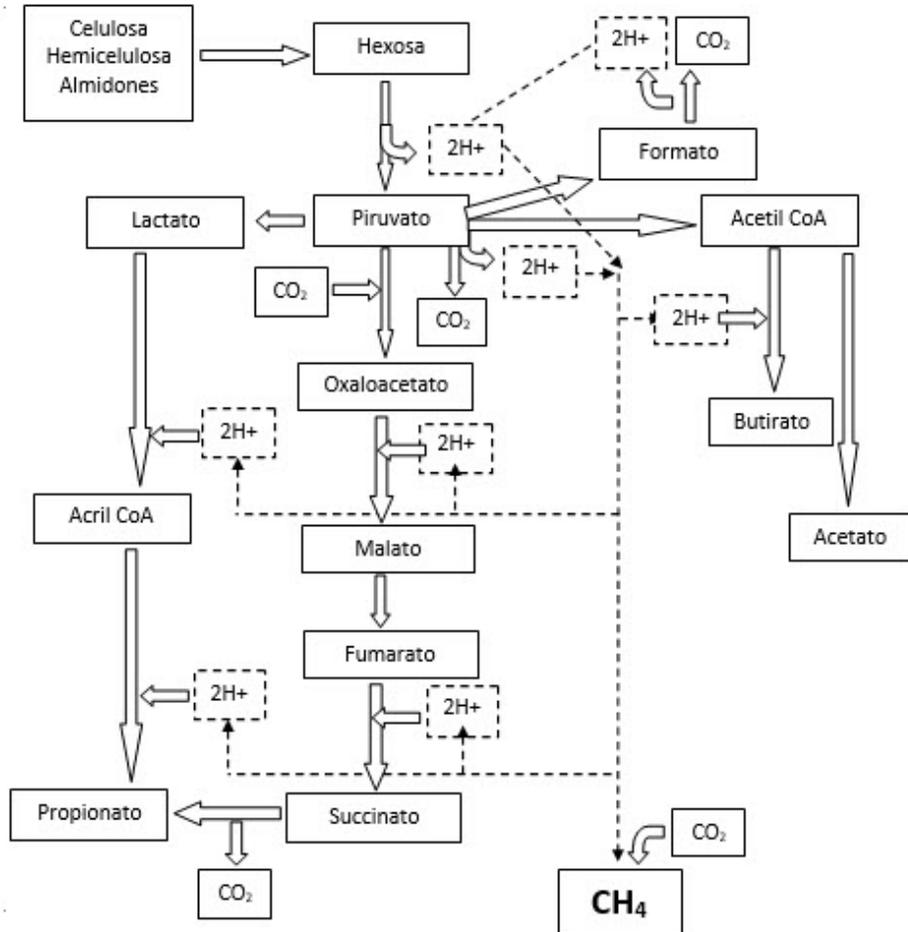
2.1. Factores que determinan la producción de metano

La producción de metano en los animales rumiantes está influenciada por múltiples factores; el consumo de alimento, la composición de la dieta, la digestibilidad del alimento, el procesamiento previo del alimento y la frecuencia de alimentación; entre otros. En la actualidad se han planteado varias estrategias para mitigar las emisiones de metano, como reducir el inventario de animales rumiantes, la manipulación genética de los microorganismos ruminales metanogénicos y la manipulación de la dieta o de la fermentación ruminal.

Bonilla y Lemus (2012), afirman que la manipulación nutricional para suprimir la metanogénesis incluye el uso de forrajes de alta calidad, alta proporción de granos en la dieta, uso de aditivos (compuestos químicos, ácidos orgánicos, ionóforos, probióticos), dietas ricas en ácidos grasos insaturados, adición de extractos vegetales (aceites esenciales), modificación de las prácticas de alimentación y suplementación a dietas basadas en forrajes.

Estas prácticas de alimentación reducen las emisiones de metano por la modificación de la fermentación ruminal, inhibiendo o desviando los iones hidrógeno directamente de las bacterias metanogénicas.

Figura 2. Principales rutas para la producción de CH₄ en el rumen. Tomado de Ramírez et al (2014).



3. Factores dietarios que influyen en la metanogénesis

Según Carmona *et al* (2005), el rendimiento productivo de los rumiantes está en función de la dieta, y cuando las pasturas son de baja calidad nutritiva en cuanto a proteína y carbohidratos solubles, con avanzado estado de maduración y alto contenido lignocelulósico, de inadecuada proporción gramínea leguminosa, baja digestibilidad y elevada tasa de pasaje a través del tracto gastrointestinal; hay mayor influencia sobre la relación de ácidos grasos volátiles (AGV) producidos, que regulan la producción de hidrógeno y la mayor producción de metano en el rumen.

Para Montenegro y Abarca citados por Carmona (2005), hay evidencias que muestran que la tasa de emisión de metano, por fermentación entérica, se relaciona con el alimento consumido. También se señala que entre los factores que influyen en su producción están las características físicas y químicas del alimento, las cuales afectan directamente el nivel de consumo y la frecuencia de alimentación.

3.1. Características físicas del alimento

3.1.1. Tamaño de partícula

En el momento que los bovinos pastorean o ingieren forrajes picados la masticación inicial es limitada, completándose más tarde durante el proceso conocido como rumia. En este proceso el contenido del rumen es mezclado completamente y las partículas más grandes son regurgitadas, masticadas y tragadas nuevamente, repitiéndose una y otra vez hasta que el tamaño de partícula del alimento es lo suficientemente pequeño para que las bacterias y protozoarios puedan digerirlo de manera más eficiente.

Sin embargo, cuando el tamaño de partícula de la dieta es demasiado pequeño, la capacidad de rumiar se altera, lo que disminuye la capacidad de neutralizar la acidez y la motilidad del rumen. Esto puede resultar en problemas metabólicos asociados. Garcia y Kalscheur (2007).

Según Johnson y Johnson (1995), el picado y peletizado de los forrajes son los factores preponderantes en el procesamiento de estos, que pueden disminuir la producción de metano. Se considera que el incremento en la tasa de pasaje influye sobre la disminución en la producción de dicho gas, ya que el tiempo de permanencia del alimento en el complejo retículo – rumen es menor mermando considerablemente la acción de las bacterias metanogénicas.

3.1.2. Nivel de humedad

Se ha inferido que el nivel de humedad podría afectar las positiva o negativamente las emisiones de metano de origen entérico como también las que provienen de las excretas de los bovinos; ya que según manifiesta Berra y Finster (2002) citado por Díaz (2014), la formación de bacterias metanogénicas está afectada por la temperatura y humedad, por tanto, cuando el estiércol es depositado en un ambiente que favorezca la anaerobiosis, habrá producción de este gas, de lo contrario, se producirá poco o nada de CH₄.

Por su parte, Brown *et al* (2008) citados por Hristov *et al* (2013), quien estudio las emisiones de metano provenientes compost de ganado bovino, mencionan que la generación de metano es mínima en relación a los beneficios del compostaje, de igual forma, el reducir la humedad e incrementar el contenido de sólidos del estiércol bovino es una de las prácticas que disminuyen las condiciones anaeróbicas durante el almacenamiento del estiércol y por lo tanto reducen las emisiones de CH₄.

En cuanto a la humedad del alimento, aun no se ha establecido de forma concluyente cual es el efecto que puede tener sobre las emisiones de metano o sobre los factores que contribuyen a su generación ya que según Zhang *et al* (2012) citados por Hristov *et al* (2013), los taninos de *Leucaena leucocephala*, fueron degradados durante el proceso de ensilaje, hasta aproximadamente un 40% de la concentración inicial, a los 30 días de ensilado.

3.2. Características químicas del alimento

3.2.1. Contenido de proteína

Lovett *et al* (2004) citado por Vargas (2013), refieren que una mayor concentración de proteína cruda en los forrajes ha sido asociada con la disminución en las emisiones de metano. En ensayos *In vitro* donde se comparó *Lolium perenne* con

75% más proteína cruda se reportó 14% menos metano por unidad de materia orgánica degradada. Similares resultados reportaron Navarro *et al* (2011) citados por el mismo autor, al identificar una disminución de 7% en la emisión de metano por unidad de materia seca incubada en *L. perenne* con 3% más de proteína cruda.

Por otra parte Kurihara *et al* (1999) citados por Carmona *et al* (2005), señalan que se da una asociación lineal entre la relación alimento:ganancia y la producción de metano, lo que presumiblemente puede explicar que, un incremento en la calidad de la dieta sea un medio práctico para reducir la producción de metano. De igual forma Preston y Leng (1989) citados por el mismo autor, reportan que, rumiantes alimentados con heno de baja calidad pueden generar metano a nivel de 2 kg/kg de carne producido, en cambio con una suplementación con urea, minerales y proteína no degradable en rumen, la producción de metano se puede reducir hasta 0.36 kg/kg de carne, encontrando una proporción de energía digestible fermentada a metano de 8 y 15% para la dieta suplementada y la sin suplemento, respectivamente.

3.2.2. Contenido de Fibra

Johnson y Johnson (1995) citados por Carmona *et al* (2005), mencionan que dependiendo de la tasa de degradación de la fibra y del consumo relacionado, la producción de metano puede variar; este postulado se relaciona en algunos subproductos de destilería que tienen una considerable cantidad de fibra de buena digestibilidad, el cual resulta en disminuciones en la producción de metano.

Según Carmona *et al* (2005), se presume que la alta producción de metano en forrajes tropicales está relacionada con los altos niveles de fibra y de lignina y también señalan que hay menos producciones de metano con dietas ricas en almidones que con dietas donde la fibra es preponderante.

En cuanto a la digestibilidad de la fibra, Hristov *et al* (2013), menciona que esta fracción es notablemente más alta en la dietas con el ensilaje de gramíneas en una relación que sobrepasa el 50% de la dieta; en consecuencia, la composición y la digestibilidad del forraje se deben considerar como parte de la totalidad de la dieta, lo mismo que su efecto en el consumo de alimento y en la producción animal, todo lo cual puede tener un efecto en las emisiones de los GEI provenientes del rumen o del estiércol o de los suelos tratados con estiércol. Al respecto el mismo autor menciona que las leguminosas ensiladas pueden tener una ventaja sobre los pastos ensilados debido a su contenido menor de fibra y al beneficio adicional de reemplazar los fertilizantes nitrogenados inorgánicos.

3.2.3. Contenido de Materia Orgánica

Moss *et al* (2000) citados por Carmona *et al* (2005), señalan que las emisiones de metano se encuentran relacionadas con la cantidad de materia orgánica digestible en el rumen debido a que más del 50% de la digestión ocurre allí.

Otros autores como Holtshausen *et al* (2011) citados por Hristov *et al* (2013), aseguran que un aumento en la digestibilidad de los alimentos puede disminuir la materia orgánica fermentable (almacenada) en el estiércol, reduciendo así las emisiones globales de CH₄ de los sistemas de producción de rumiantes.

3.2.4. Contenido de Carbohidratos no Estructurales

Entre los carbohidratos no estructurales que intervienen en la emisión de metano se encuentran los almidones los cuales tiene un papel muy importante; según Hristov *et al* (2013), es clara la relación entre la digestibilidad de la materia orgánica, el consumo de almidones y los patrones de fermentación ruminal por cuanto la estequiometría de la fermentación ruminal indica que se producirá más metano, en

la fermentación de la fibra que en la de los almidones ya que estos últimos se ocupan como equivalentes de reducción en la síntesis de propionato.

En relación Moss *et al* (2000), indican que las dietas altas en almidón favorecen la producción de propionato y disminuyen la relación metano/materia orgánica fermentada en el rumen. Por su parte Chandramoni *et al* (2000) citados por Carmona *et al* (2005), afirman que hay menos producciones de metano con dietas ricas en almidones.

Mc Geough *et al* (2010), estimaron que a medida que aumentan la madurez del ensilaje de maíz también se incrementa la concentración de almidón, el cual altera la relación de ácido propiónico/acético, generando una menor disponibilidad de H₂ para la formación de metano.

3.2.5. Contenido de Taninos

Pavarini *et al* (2012) citados por Cardona *et al* (2016), afirman que existen cientos de metabolitos secundarios, que suelen ser agrupados según las sustancias químicas que los constituyen. Entre los más relacionados con la disminución de metano entérico en bovinos se encuentran los taninos y las saponinas. Los primeros son compuestos polifenólicos de alto peso molecular que tienen la capacidad de formar complejos con otros compuestos.

Según Barbehenn y Constabel (2011) citados por Cardona *et al* (2016), los taninos se clasifican en hidrolizables (TH) y condensados (TC), los cuales reaccionan con iones de calcio de la pared celular, y causa un cambio en la permeabilidad de la célula, que permite su penetración, con lo que se inactivan permeasas del periplasma involucradas en el transporte de aminoácidos y carbohidratos. Lo

anterior provoca cambios morfológicos e induce a deficiencias nutricionales y posterior muerte celular como lo refieren Posada *et al* (2014) y Ortiz *et al* (2014).

Además, hay que tener en cuenta que el efecto de los metabolitos secundarios sobre la microbiota ruminal, depende principalmente de la composición química de la planta y del pH ruminal como lo mencionan Patra y Saxena (2009) citados por Cardona *et al* (2016). Los taninos condensados inhiben el crecimiento de cierto grupo de bacterias y protozoarios debido a que no pueden ser degradados por los microorganismos del rumen, como consecuencia de su alto peso molecular, pero si son capaces de degradar los taninos hidrolizables, cuyo peso molecular es más bajo. Se ha reportado una mayor disminución en la producción de metano entérico, cuando se incluyen TC frente a los TH y cuando la concentración de estos en la dieta varía entre 2 y 4% según lo afirman Vargas *et al* (2012).

Autores como Scalbert (1993) y Tavendale *et al* (2005) citados por Ramírez *et al* (2014), señalan que los taninos condensados reducen la metanogénesis ruminal mediante la disminución de la formación de hidrógeno e inhibiendo a los microorganismos metanogénicos. Lo cual se ha podido corroborar en diferentes estudios tanto *In vivo* como *In vitro*, al incluir plantas taníferas en las dietas de animales.

Hess *et al* (2002) citados por Cardona *et al* (2016), afirman que este tipo de metabolitos presentes en muchas leguminosas, pueden estar asociados con la reducción en la producción de CH₄, hasta en un 50%, respecto a la dieta tradicional de pasto solo. Por lo tanto, la introducción de especies forrajeras, leguminosas y arbóreas, representan una alternativa nutricional y de mitigación de GEI como el CH₄ como lo afirman Barahona *et al* (2003).

Teniendo en cuenta un moderado contenido de metabolitos secundarios en la dieta de los bovinos, que contribuyan a disminuir la metanogénesis ruminal, sin afectar los parámetros de la dinámica ruminal, como la digestibilidad de la ración, el perfil de fermentación o la tasa de sobrepaso según lo manifiestan Cardona *et al* (2016).

3.3. Efecto de las dietas forrajeras tropicales en las emisiones de metano

Los alimentos suministrados en la dieta de un rumiante aportan nutrientes según sus características, el producto obtenido tras la fermentación (CO₂ – CH₄) depende de la cantidad y tipo de alimentación. Ramin y Huhtanen (2013), afirman que la energía utilizada para producir metano a nivel ruminal está relacionada negativamente con la calidad y cantidad de carbohidratos no fibrosos como almidón y azúcares presentes en el alimento, y positivamente con la cantidad de fibra detergente neutro (FDN) del mismo.

Los forrajes tropicales se caracterizan por su alto contenido de fibra, según el NRC (2001), los compuestos principales son celulosa, hemicelulosa, lignina, sílice, nitrógeno ligado a la lignina y pectinas. Donde la proporción de cada uno de ellos cambia la digestibilidad de los alimentos.

Evidentemente los forrajes con una proporción de 20 a 35% de FDN, presentan una mayor digestibilidad que aquellos forrajes con un mayor contenido de FDA y lignina, los cuales tendrán menor coeficiente de digestibilidad, relacionándose también con la producción de metano entérico.

Según Kellems y Church (2002), los forrajes se clasifican en plantas C3 y C4, según su sendero fotosintético. Las plantas adaptadas a los climas templados (C3) almacenan más carbohidratos como almidones que las plantas C4 (de clima tropical) y además, pueden usar sus carbohidratos de reserva cuando ellas empiezan a crecer después de un corte. Las plantas C4 tienen una tasa y grado

mayor de depósito de lignina en los tejidos vegetales, factor que altera el consumo voluntario, la digestión y la producción de metano. Los pastos C4 tienen mayor potencial de producción de metano que los pastos C3.

Afirma Vargas Martínez (2013), que las primeras investigaciones que compararon la producción de metano en especies C3 con especies C4 fueron reportadas por Margan *et al* (1988), quienes concluyeron que ovejas alimentadas con especies C4 (*Digitaria decumbens* y *Setaria spacelata*) produjeron 14,3% más metano relacionado con la energía digestible consumida que aquellas alimentadas con especies C3 (*Lolium perenne* y *Trifolium repens*). De igual manera Primavesi *et al* (2004), encontraron una mayor producción de metano por unidad de materia seca degradada en vacas que consumieron pastos tropicales que aquellas que consumieron pastos de clima templado. Finalmente, el consumo de especies C4 en comparación con las C3 se han relacionado con una menor producción leche y/o carne, lo cual resulta en una mayor emisión de metano por unidad de producto.

Según Archimède *et al* (2011) citado por Rivera *et al* (2015), animales alimentados con plantas C3 producen menos metano que las C4, 30.0 vs 33.7 L por kg de MS consumida, respectivamente.

Es importante también considerar que las leguminosas en su composición contienen taninos condensados o saponinas pueden lograr disminuir o inhibir la producción de metano entérico en los rumiantes, además de que se presenta una respuesta productiva eficiente por parte de los rumiantes, a la asociación de leguminosas con gramíneas.

3.4. Metabolitos secundarios para la mitigación de la metanogénesis

Según Vélez Terranova *et al* (2014), las plantas producen una gran variedad de compuestos bioactivos y metabolitos secundarios como medio de defensa al ataque

de insectos, microorganismos y como medio de adaptación a ambientes adversos (temperatura, humedad, intensidad de luz, sequia, etc.).

Estos compuestos durante mucho tiempo se han utilizado principalmente en la industria para la fabricación de medicamentos y preservación de alimentos, sin embargo, estudios han demostrado que son útiles para manipular algunos procesos metabólicos en los rumiantes y modular selectivamente las poblaciones microbianas del rumen permitiendo mejorar la fermentación, el metabolismo del nitrógeno y reducir la producción de metano. Bodas *et al*, (2012).

Los metabolitos secundarios actúan de varias maneras para disminuir la metanogénesis, una de las reacciones más importantes es la capacidad de inhibir la actividad de las bacterias metanogénicas favoreciendo la fermentación ruminal para obtener una mayor producción de propionato, o disminuir el H₂ disponible para minimizar la producción de metano.

Según Vélez *et al* (2014), existe un gran número de especies de plantas con potencial para disminuir la producción de metano que pueden ser usados ya sea como aditivos alimenticios, suplementos o como alimento para rumiantes en pastoreo. Los metabolitos secundarios con características de mitigar o disminuir la producción de metano a nivel ruminal se clasifican generalmente en cuatro grupos principales: saponinas, taninos, aceites esenciales y flavonoides.

3.4.1. Efecto de las saponinas sobre la fermentación ruminal

Según Rojas y Pérez (2010), Las saponinas son compuestos polares de alto peso molecular, están ampliamente distribuidas en el reino vegetal, cada molécula está constituida por un elemento soluble en lípidos (esteroides) y un elemento soluble en agua (el azúcar). Las saponinas forman espumas al ser agitadas en agua; poseen

una estructura compleja en las cuales varias unidades de monosacáridos se enlazan mediante un enlace glicosídico a un compuesto denominado aglicón.

Las saponinas más comunes son las triterpenoides, encontradas especialmente en leguminosas, sin embargo, se puede encontrar una gran variedad de estos compuestos en forrajes y demás plantas.

Thagaard (2007), afirma que el efecto de las saponinas para disminuir la metanogénesis es indirecto, ya que se produce una reducción en la población de protozoarios (defaunación), los cuales están asociados a las bacterias metanogénicas y cuya relación puede generar entre el 9 al 37 % de las emisiones totales de metano.

Sin embargo se ha conocido que las saponinas reducen la producción de metano por otros mecanismos. En estudios realizados por Patra y Saxena (2010), observaron una disminución en la tasa de producción de metano por las bacterias metanogénicas a causa de la inclusión de este metabolito. Además, es conocido que las saponinas favorecen una mayor proporción de propionato, resultando en una menor oferta de hidrógenos necesarios para la producción de metano.

De igual manera Vélez *et al* (2014), afirman que las saponinas en general tienen un efecto menor sobre el patrón de fermentación ruminal. En muchos casos se aumenta la eficiencia ya que se disminuye la relación acetato:propionato sin afectar la degradabilidad de los sustratos, mejorando la productividad de los animales.

3.4.2. Efecto de los taninos sobre la fermentación ruminal

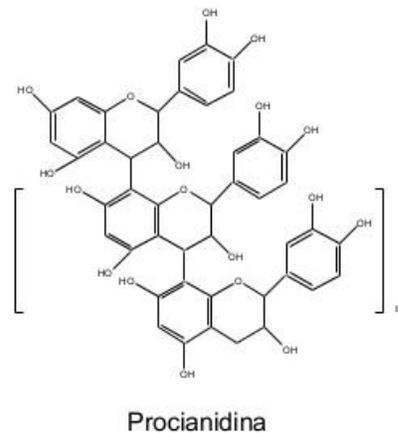
Según McLeod (1974), los taninos son un grupo muy complejo de compuestos fenólicos que se encuentran en numerosas especies vegetales (arbustos y árboles

forrajeros, leguminosas, frutas, cereales y granos) que pueden ser consumidas por los rumiantes.

La presencia de un gran número de grupos hidroxilo fenólicos les brinda la capacidad de formar complejos principalmente con las proteínas.

Los taninos se dividen en dos grandes grupos taninos hidrolizables y taninos condensados. Van Soest (1994), asegura que los taninos hidrolizables están constituidos por un núcleo compuesto por un glúcido, cuyos grupos hidroxilo se encuentran esterificados con ácidos fenólicos. Por su parte, los llamados taninos condensados (o proantocianidinas), son polímeros de hidroxiflavonoles. Los taninos condensados están mucho más distribuidos en la naturaleza que los hidrolizables y se encuentran, principalmente en hojas de árboles, arbustos y leguminosas herbáceas.

Figura 3. Estructura química de los taninos condensados.



TANINOS CONDENSADOS

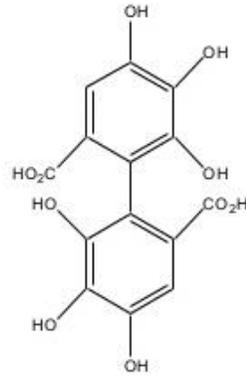
Son oligómeros formados por condensación de dos o más unidades de hidroxiflavonoles.

Adaptado de Carulla (1994).

Figura 4. Estructura química de los taninos hidrolizables.

TANINOS HIDROLIZABLES

Derivados de ácidos fenólicos simples, como el ácido gálico y su dímero combinado con la glucosa.



Ácido hexahidroxidifénico

Adaptado de Carulla (1994).

Según Bodas *et al* (2012), el efecto de los taninos sobre la metanogénesis es variable, se considera que pueden inhibir el crecimiento o la actividad de las bacterias metanogénicas y protozoarios del rumen por medio de mecanismos bactericidas o bacteriostáticos. Así como también pueden afectar las bacterias celulolíticas y consecuentemente la fermentación de los carbohidratos a ácidos grasos de cadena corta, en especial la producción de acetato, de esta manera se reduce la formación de CO₂ y H₂ necesarios para la metanogénesis.

La reducción en la actividad metanogénica atribuida a los taninos es principalmente sobre los taninos condensados, los cuales disminuyen la producción de metano a través de una reducción en la digestión de la fibra. Tiemann *et al* (2008), evaluó el efecto de 2 leguminosas tropicales (*Calliandra calothyrsus* y *Flemingia macrophilla*) conocidas por su contenido de taninos condensados sobre la emisión de metano en corderos y encontró una reducción en la emisión de hasta 24%, pero a causa de la reducción en la digestibilidad de la materia orgánica y fibra.

Según Patra y Saxena (2010), los taninos reducen la degradación de la proteína a nivel ruminal a través de la formación de complejos entre estos dos compuestos previniendo el ataque de los microorganismos del retículo rumen, aunque el efecto antimicrobial en el rumen también afecta el crecimiento de las bacterias celulolíticas, lo que genera efectos adversos sobre la fermentación ruminal y digestión de los alimentos.

De manera general se considera que el mecanismo de acción de los taninos para disminuir la metanogénesis es a través de la reducción en el número de protozoarios, bacterias metanogénicas y por la reducción en la degradación de la fibra, sin embargo, todo va a depender de la estructura química y dosis en la dieta.

Es importante considerar la afirmación de Patra y Saxena (2010), que también los taninos hidrolizables, pueden ser potencialmente tóxicos cuando se suministran en grandes cantidades sin un tiempo adecuado de adaptación.

3.4.3. Efecto de los aceites esenciales sobre la fermentación ruminal

Polin Raygoza *et al* (2014), afirman que los aceites esenciales son componentes secundarios de las plantas, generalmente de naturaleza volátil. El término esencial deriva de la palabra “esencia”, lo cual significa que se puede oler o degustar.

Puede existir una gran variación en la producción y composición de los aceites esenciales entre plantas de una misma especie y en diferentes partes de una misma planta. Por su parte, la composición de los aceites varía de acuerdo a la temporada del año, región y estado de cosecha.

El mismo autor afirma que se han reportado estudios donde se evidencia que los aceites esenciales inhiben a las bacterias productoras de nitrógeno amoniacal,

decreciendo así la desanimación de los aminoácidos principalmente en dietas que contienen cantidades no muy altas de proteína.

Para Bodas *et al* (2012), los aceites esenciales presentan una fuerte actividad antimicrobial que inhibe el crecimiento y la supervivencia de la mayoría de microorganismos en especial de bacterias. A pesar de que los aceites esenciales pueden reducir la metanogénesis ruminal, se cree que esta reducción se produce dependiendo de la dosis en la dieta. Con dosis altas se puede observar una reducción en la producción de metano, pero también se afecta la fermentación ruminal y por lo tanto la formación de otros productos finales.

La disminución en la producción de metano generada por los aceites esenciales según Patra y Saxena (2010), parece estar mediada por una aparente reducción de las bacterias metanogénicas y los microorganismos productores de hidrógeno. Así como por la inhibición de las bacterias productoras de amonio y otras bacterias poco deseables, lo que permite modular favorablemente la fermentación ruminal incrementando las concentraciones de ácidos grasos volátiles y reduciendo la producción de metano y amonio ruminal.

3.4.4. Efecto de los flavonoides sobre la fermentación ruminal

Según Vélez *et al* (2014), los flavonoides son compuestos polifenólicos que comprenden quince átomos de carbono, con dos anillos aromáticos conectados por un puente de tres carbonos. Son los compuestos fenólicos más numerosos y se encuentran en todo el reino vegetal, los cuales están presentes en altas concentraciones en la epidermis de las hojas y cascaras de las frutas.

Patra y Saxena (2010), afirman que las plantas que contiene flavonoides no solo reducen la producción de metano, sino que también estimulan el metabolismo microbial.

Broudiscou y Lassalas (2000), realizaron un estudio donde evaluaron el efecto de *L. officinalis* y *E. arvense*, dos especies conocidas por el alto contenido de flavonoides sobre la fermentación in vitro de los microorganismos ruminales, y encontraron que las adiciones de las dos especies mejoraron la tasa de fermentación en un 50% a través de un aumento en la liberación de acetato y propionato, reduciendo de esta manera la producción de metano.

4. Factores animales ligados a la metanogénesis

De acuerdo con el Instituto Científico de Investigación Agronómica de España - INRA (1981), La producción de metano varía dependiendo del tamaño y condiciones de la zona fermentativa, así como de la existencia de mecanismos que favorezcan la retención del alimento y que prolonguen el tiempo de acción de los microorganismos.

El volumen relativo del rumen esta dado en función del estado fisiológico de los animales, y de este va a depender la existencia de una densa población microbiana (aproximadamente 2 kg de bacterias en un bovino adulto). Se considera que el 80% de la materia orgánica del alimento es fermentada a nivel del rumen.

4.1.1. Factores ligados a la edad del animal.

Para Giraldo Parra (2013), la producción de metano y su eliminación a través del eructo, empieza aproximadamente a las cuatro semanas de vida, cuando el animal empieza a consumir alimentos sólidos, se reduce la utilización de la gotera esofágica, y los alimentos empiezan a ser retenidos en el retículo - rumen, dando inicio a la fermentación microbiana de los alimentos y la producción de gases, entre ellos el metano.

4.1.2. Factores ligados a la especie animal.

Según el NRC (2001), en ciego y colon de los rumiantes y también en otras especies animales, especialmente herbívoras (caballos, conejos) y en menor grado las omnívoras (porcinos), se produce también fermentación de los alimentos. Sin embargo, la fermentación ceco colonica se da únicamente sobre la fracción del alimento no digerido en intestino delgado (constituyentes fibrosos principalmente). Además, el tiempo de retención del residuo alimenticio es mucho más limitado que en el rumen, por lo que su importancia cuantitativa es inferior que la que ocurre en el rumen.

4.1.3. Factores ligados al estado fisiológico del animal.

De acuerdo con Blaxter (1964), un aumento en el nivel de ingestión de alimento debido a necesidades nutricionales más altas en animales de mayor producción, implica un incremento de la velocidad de tránsito por el rumen y como consecuencia un menor tiempo de acción de los microorganismos, una menor digestión fermentativa y, por ende, una menor formación de metano en términos relativos.

4.2. Factores ligados al manejo nutricional.

Johnson y Johnson (2005), señalan que la energía no aprovechada debido a la producción y eliminación de gas metano, se debe a muchos factores, estos incluyen: cantidad y tipo de alimento (relación balanceado - forraje en la ración), manipulación de la fermentación ruminal, tipo de carbohidrato en la dieta y procesamiento de los forrajes. Convirtiéndose dichos factores en alternativas para la disminución de la metanogénesis.

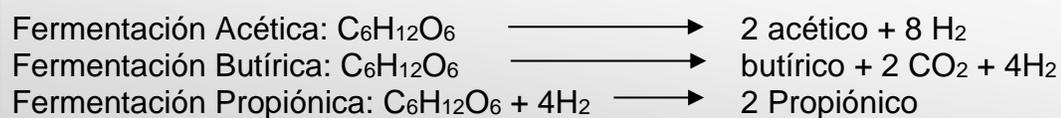
4.2.1. Relación alimento balanceado / forraje en la ración.

La alimentación de los rumiantes con raciones que contienen altas cantidades de balanceado en relación a forrajes, da lugar a una disminución del pH del contenido ruminal. Este efecto es consecuencia de la mayor velocidad de fermentación del balanceado, así como de la disminución del poder tampón asociado al consumo de forraje de forma directa o indirectas (a través de la inducción de la rumia y de la entrada al rumen del tampón fosfato y bicarbonato contenido en la saliva).

Según Moss *et al* (2000), la acidificación del contenido ruminal supone cambios en la composición de la flora microbiana, que incluyen una disminución de la densidad de flora celulolítica y un aumento de flora amilolítica; como consecuencia, se reduce la digestión de la fibra y se altera el tipo de fermentación hacia la formación de una menor cantidad de ácido acético y mayor de ácido propiónico.

Van Soest (1994), afirma que los tipos de ácidos grasos producidos en la fermentación tienen un efecto directo sobre la cantidad de H₂ y metano liberados, ya que como se observa en la figura 2, la formación de ácido acético es paralela a la de H₂ (4 moles de H₂/mol acético) mientras que la de ácido propiónico implica captura de H₂ (2 moles de H₂/mol de propiónico). De esta forma, las emisiones de metano aumentan en paralelo a la relación (acético + butírico) - propiónico formado en el rumen.

Figura 5. Balance de la fermentación de azúcares en el rumen según el tipo de ácido graso volátil producido.



Fuente: Van Soest, 1994.

4.2.2. Factores ligados al procesamiento de los forrajes

Según lo menciona la FEDNA (2008), la molienda y posterior granulación de los forrajes supone un descenso de las emisiones de metano, especialmente cuando los forrajes son de buena calidad. El picado de los forrajes supone una disminución del tamaño de sus partículas y por ello un menor tiempo de permanencia en el rumen, una menor tasa de fermentación.

Por otra parte, la molienda del forraje da lugar a un menor tiempo de rumia, una acidificación del contenido ruminal y una reducción de la relación acético/propiónico, lo que resulta en un efecto adicional sobre la disminución de la producción de metano.

Tabla. 3. Producción de metano (Kcal de CH₄/100 Kcal de alimento suministrado) en relación con la digestibilidad aparente del forraje y de su tamaño de molienda.

Ración	Digestibilidad aparente de la energía (%)				Desviación típica de un ensayo aislado
	50	60	70	80	
Groseros	7,2	7,8	8,4	9,0	±4,07
Granulados	7,0	7,5	7,5	7,7	±0,53

Fuente: Blaxter, 1964.

5. Especies vegetales utilizadas para la mitigación de la metanogénesis ruminal

Según Johnson y Johnson (1995), la producción de metano es parte del proceso digestivo normal de los herbívoros rumiantes. La fermentación de material vegetal que ingieren los bovinos, es un proceso anaeróbico que convierte los carbohidratos provenientes de la celulosa y la hemicelulosa en ácidos grasos de cadena corta,

cuando se produce esta transformación, también se producen gases como el dióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄), los cuales se eliminan en parte por la respiración.

Los sistemas de producción ganaderos tradicionales están basados en la alimentación de los bovinos a pastoreo, donde generalmente las praderas son monocultivos de gramíneas con alto contenido de fibra, escasa suplementación nutricional, con bajos rendimientos productivos.

En función de lo expuesto Giraldo Parra (2013), concluye que toda intervención alimenticia (cantidad/calidad) que genere una alteración en los perfiles de ácidos grasos volátiles producidos a nivel ruminal (más propionato y menos acetato), impactaría negativamente sobre la producción de metano.

Ejemplos de intervenciones orientadas a la mitigación del metano incluyen, varios tipos de aditivos y suplementos dietarios. En este caso se presenta algunas especies forrajeras, arbóreas y arbustivas que aporten de manera positiva sobre la reducción de la metanogénesis.

5.1. Especies forrajeras.

Vélez *et al* (2014), sugieren que existe un gran número de especies de plantas con potencial para disminuir la producción de metano que pueden ser usadas ya sea como aditivos alimenticios, suplementos o como alimento base para rumiantes en pastoreo.

5.1.1. Lotus corniculatus.

Se conoce que existen alrededor de 200 especies del genero *Lotus*. Lagler (2003), afirma que la especie más importante es el *Lotus corniculatus* o comúnmente conocido como “trébol pata de pájaro.”

Según García *et al* (2011), se puede establecer una comparación en cuanto a la calidad nutritiva de la alfalfa (*Medicago sativa*) y a la del Trebol blanco (*Trifolium repens L*), por su proteína de excelente calidad, la cual oscila entre 17,7 a 21,6%. Se conoce que el *Lotus corniculatus* contiene menos celulosa y más carbohidratos no estructurales, además de que no produce timpanismo en animales rumiantes, debido a sus metabolitos secundarios (taninos).

Miñon *et al* (1990), asegura que el *Lotus corniculatus* puede utilizarse como alternativa a otras leguminosas en suelos de baja calidad, tiene una mejor adaptación y puede desarrollarse en suelos con exceso de humedad y demasiado pesados como para cultivar alfalfa o demasiado secos para el cultivo de trébol blanco, es una especie que se adapta desde a temperaturas medias entre los 16° a 27° C, presentando un mejor desarrollo en alturas que van desde los 2000 hasta los 3000 m.s.n.m.

Además, aporta al suelo nitrógeno fijado directamente de la atmosfera mejorando la disponibilidad para las especies que se cultivan en asociación con esta leguminosa.

La importancia que ha logrado resaltar esta especie es que por su alto contenido de taninos condensados disminuye la digestibilidad de la proteína a nivel de rumen, lo que a su vez permite incrementar los parámetros productivos de los bovinos, ya sea para producción de leche o carne. Sin embargo, Min *et al* (2003), consideran que altas concentraciones de taninos condensados (rangos mayores a 55 g/kg de materia seca) reducen el consumo voluntario y la digestibilidad.

Figura 6. Trébol pata de pájaro (*Lotus corniculatus*)



Fuente: GardenWorldImages.com., 2013.

Leng (1997) citado por Santacoloma (2011), encontró que en animales de baja productividad, como resultado de la reducida digestibilidad y deficiencia de nutrientes esenciales como proteína cruda en los forrajes, es posible mejorar las condiciones, modificando la fermentación ruminal a través del manejo de la dieta (uso de leguminosas), o afectando de manera selectiva las poblaciones microbiales del rumen, lo cual además de mejorar, la conversión alimenticia y los indicadores de productividad, disminuye las emisiones de metano y otras pérdidas energéticas.

De esta manera, Lascano y Cárdenas (2010) citados por Santacoloma (2011), afirma que en numerosas investigaciones se ha demostrado que leguminosas de zonas templadas como el *Lotus corniculatus*, contienen metabolitos secundarios (taninos condensados), lo cual permite inferir sobre su potencial de reducción de la metanogénesis.

Lo anterior se explica porque, probablemente, tanto taninos como compuestos fenólicos pueden ser tóxicos para algunos de los microorganismos del rumen, especialmente, protozoarios ciliados, bacterias degradadoras de fibra y bacterias metanogénicas; en consecuencia, el uso de esta especie puede disminuir la metanogénesis.

La presencia de leguminosas taníferas en dietas de bovinos y ovinos se ha relacionado con disminución en las emisiones de metano. Diferentes estudios con leguminosas de zonas templadas reportan una disminución entre un 12 y un 60% sobre la producción de metano como proporción de la energía bruta consumida cuando se incluye en la dieta una leguminosa con taninos condensados según lo presentan Woodward *et al* (2001), Pinares *et al* (2003) y Waghorn *et al* (2002) citados por Vargas *et al* (2012), además es importante considerar que los mismos autores reportan que la inclusión de *Lotus corniculatus* en la dieta de bovinos fue asociada con disminuciones del 16 al 25% en emisiones de metano por unidad de MS consumida, o por unidad de producto animal en bovinos y ovinos.

Los taninos condensados reducen la población total de los protozoos en el rumen, la presencia de taninos modificó la población de organismos *Entodiniomorfos*, esto prueba una vez más que los metabolitos de las plantas actúan como agentes defaunantes del medio ruminal, de acuerdo a lo reportado por Woodward *et al* (2001) citados por Delgado *et al* (2013).

Methol (2005), afirma que en investigaciones preliminares llevadas a cabo en el Instituto Agricultural Research Grasslands de Nueva Zelanda, se estimó que la emisión de metano en ganado (ovino y vacuno) que consumía *Lotus corniculatus* podría reducirse hasta un 16% respecto a otras pasturas con menor concentración de taninos. En investigaciones relacionadas en el Instituto Dexcel Limited del mismo país, se obtuvieron reducciones de metano por unidad de materia seca consumida

del orden del 30% utilizando *Lotus corniculatus* en lugar de pasto ryegrass, tanto en ovinos como bovinos de producción de leche.

5.1.2 *Pennisetum clandestinum*

Carmona, Martínez y Escobar & López (2001) citados por Bastidas y Guerrero (2011), sostienen que el pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) es una gramínea nativa de las regiones montañosas al este de Kenia y parte central de África donde crece espontáneamente a altitudes entre los 2000 y 3000 msnm, deriva su nombre del pueblo Kikuyo de Kenia.

El género *Pennisetum* es casi en su totalidad africano ya que se han reportado 39 especies en el África subtropical y solamente una de Europa. La producción de forraje depende en gran parte de la fertilidad y la humedad del suelo, con prácticas de manejo adecuadas se puede obtener más de 20 ton/ha/año de materia seca.

Es una planta de bajo crecimiento, perenne y se presenta cubriendo grandes extensiones formando un césped difícil de erradicar. Hojas vellosas, planas o semiplegadas con nervaduras medianas poco perceptibles, de ápice agudo y hasta de 35 cm de longitud. La inflorescencia consta de 2 a 4 espiguillas y las semillas son de forma globosa de color café oscuro y de 1 mm de diámetro según lo refiere Apráez y Moncayo (2000). Según Delgado y Cabrera (1989) citados por Alvarado y Paz (2004), este forraje se utiliza tanto para corte como para pastoreo, en condiciones apropiadas de humedad, fertilización y manejo en la frecuencia de rotación, puede ser de 42 a 56 días, dependiendo de las épocas de lluvia, si son veranos prolongados se realizan de 60 a 75 días.

Figura 7. Pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*)



Fotografía, Héctor V. Franco. 2010.

Correa *et al* (2008) citados por Ramírez *et al* (2015), reportaron que el pasto kikuyo posee contenidos medios de fibra detergente neutra (FDN), carbohidratos no estructurales (CNE) y proteína bruta (PB) de 58.1, 13.4 y 20.5% de la materia seca (MS), respectivamente, valores que fluctúan en función del manejo agronómico. Además Ramírez *et al* (2015), manifiesta que en la mayoría de los sistemas especializados de producción lechera en Colombia se utiliza el pasto kikuyo como base forrajera para la alimentación de los animales, por lo tanto, es necesario conocer la influencia de esta especie sobre las emisiones de metano.

Vargas (2013), evaluó de forma *in vitro* el efecto de la especie y la madurez, sobre las emisiones de metano de cuatro especies de forrajes del trópico alto colombiano (2540 msnm) dos gramíneas: ryegrass (*Lolium perenne*) y kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), y dos leguminosas: trébol (*Trifolium repens*) y lotus grande (*Lotus*

uliginosus)). Los forrajes se cosecharon en tres diferentes estados de madurez (tierno, intermedio y maduro), según el contenido de fibra en detergente neutro (bajo, medio y alto, respectivamente). El ryegrass fue cosechado a los 15, 35 y 70 días, y el kikuyo, el trébol y el Lotus fueron cosechados a los 25, 45 y 90 días de rebrote para los estados de madurez tierno, intermedio y maduro, respectivamente. La producción de gas y la proporción de metano en el gas se determinaron después de 48 h de incubación *In vitro*.

Este estudio determinó que la producción de metano en forrajes tiernos fue menor respecto a la edad intermedia y madura. Esta fue mayor para el ryegrass y el trébol y la menor producción de metano fue para el Lotus mientras que para el kikuyo fue intermedia. La producción de metano entre especies y estados de madurez estuvo principalmente explicada por las variaciones en la producción de gas total ya que la proporción de metano en el gas entre especies y estados de madurez fue similar, excepto en el Lotus y el kikuyo tierno, donde estas fueron menores.

Estas diferencias se podrían explicar por la presencia de taninos condensados en el Lotus y posiblemente a una mayor acumulación de nitratos en el kikuyo tierno según lo refiere Leng, (2008) citado por Vargas (2013).

Estos resultados también sugieren que la producción de gas no estaría asociada al tipo de metabolismo de la especie (C3 vs C4) o a su diferencia entre gramínea y leguminosa, sino que estaría asociada a la concentración de carbohidratos degradables. Según Stewart *et al* (1997), las diferencias en las proporciones de AGV están asociadas a la especie de microorganismos que utilizan el piruvato. Murpy *et al* (1982) citados por Vargas (2013), mostraron que un mismo carbohidrato puede producir diferentes proporciones de AGV dependiendo del pH y la dieta, pero en las condiciones de este estudio donde el pH es más o menos constante y los sustratos son forrajes se esperaría que el tipo de microorganismos presentes fuera

similar entre tratamientos. Por lo tanto, la producción de gas estaría más estrechamente relacionada con la degradación de carbohidratos totales y no con las diferencias en las proporciones de estos.

De la misma manera Vargas (2013), determinó la producción de metano *In vitro* en mezclas de gramínea:leguminosa. Utilizando cuatro mezclas, kikuyo y Lotus, kikuyo y trébol blanco, ryegrass y Lotus y ryegrass y trébol en tres diferentes proporciones gramínea:leguminosa (90:10, 70:30 y 50:50). Cuando se aumentaron las proporciones de trébol, la producción de metano por unidad de materia orgánica degradada disminuyó en un 13% para el caso del kikuyo, pero no para el caso del ryegrass. La producción de metano por unidad de materia orgánica degradada disminuyó en 16% cuando se incrementó la proporción de Lotus en la mezcla con el kikuyo. Esto podría explicarse por un aumento en la síntesis de proteína microbial en el primero, pero no en el segundo.

Blümmel *et al* (1997) citados por Vargas (2013), sugieren que los productos de la fermentación se distribuyen entre la producción de gas, síntesis de AGVs y formación de proteína microbial. Por lo tanto, un aumento en la producción de proteína microbial implicaría una disminución en la producción de gas y/o AGVs. De la misma manera Hess *et al* (2003), mencionan que la inclusión de niveles crecientes de una leguminosa con bajos contenidos de taninos aumenta la proporción de nitrógeno empleado en la síntesis de proteína microbial.

Una tendencia diferente entre el kikuyo y el ryegrass en la síntesis de proteína microbial como consecuencia de la adición del trébol blanco podría ayudar a explicar la respuesta diferencial entre las dos gramíneas a la adición de trébol. Se ha sugerido que una mayor síntesis de masa microbial disminuye la producción de metano ya que parte de la materia orgánica queda retenida en la masa microbial según Blümmel *et al* (1997). Por lo tanto, el pasto kikuyo presenta un mejor

comportamiento en cuanto a producción de metano en asocio con trébol, generando un mayor crecimiento de microorganismos ruminales, que cuando se adicionó la leguminosa al ryegrass.

5.1.3. *Lolium multiflorum*

Gillet (1984) citado por Monsivais (2013), menciona que el pasto ryegrass (*Lolium multiflorum*), es una de las gramíneas forrajeras cuyo manejo es uno de los más sencillos para su establecimiento y uso; es nativa de Europa, Asia y el Norte de África y se encuentra distribuida a través del mundo, incluyendo Norte y Sur de América, Europa, Nueva Zelanda y Australia. Por su parte Melgar (2006) citado por Hagen (2012), afirman que el forraje de *L. multiflorum* es un conocido recurso que, en la producción de leche y carne tiene una importancia fundamental, ya que genera una elevada producción de biomasa de muy buena calidad nutricional.

Según Muslera *et al* (1991) citados por Monsivais (2013), el pasto ryegrass es una planta bianual, pero en ciertas condiciones de manejo puede durar incluso hasta 5 años; es la gramínea por excelencia para las praderas de corta duración, sola o en mezcla con el trébol rojo, obteniéndose producciones rápidamente a partir del establecimiento.

Se encuentra adaptada a temperaturas frescas, con un rango óptimo entre 18-20 °C siendo sensible a la sequía, de igual manera Monsivais (2013), afirma que el *L. multiflorum* se desarrolla bien en suelos de texturas medias a pesadas, con buen drenaje superficial, prosperando en suelos pobres con un amplio rango de pH al igual que los demás ryegrass (anuales o perennes).

Figura 8. Pasto Ryegrass (*Lolium multiflorum*)



Fotografía de Juan Pablo Narváez. Valle de Sibundoy, 2015.

Johnson y Johnson (1995), plantean que uno de los mecanismos primarios que causan una variación en la producción de metano está ligado a la regulación en el suministro de hidrógeno disponible, principalmente por la fracción de ácido propiónico el cual tiene un impacto importante en la producción de metano. Por su parte Wolin y Miller (1988), mencionan que, si los carbohidratos se fermentan a ácido acético y no se produce ácido propiónico, la pérdida de energía como metano sería del 33%.

Con respecto a la producción de ácido propiónico Apráez *et al* (2012), registraron una producción de 897 y 551 ml/L para *L. multiflorum* con inóculo ruminal y fecal, la cual se encontró por encima de otras especies como alfalfa (*Medicago sativa*), acacia negra (*Acacia decurrens*), chilca colorada (*Baccharis latifolia*) y abutilon (*Abutilon striatum*). La producción de ácido propiónico de *L. multiflorum*, permite establecer que esta especie tiene potencial para mitigar las emisiones de metano ya que según Cardona *et al* (2005), altas fermentaciones propiogénicas son indicativas de reducciones de metano. Por su parte Apráez *et al* (2012), infiere que

los cambios en los patrones de fermentación que incrementen la proporción de ácido butírico y acético y disminuya la proporción de propiónico, pueden resultar en un incremento en el volumen de gas.

Montenegro y Abarca (2000) citados por Carmona et al (2005), reportaron en ensayos con *Pennissetum clandestinum* una mayor eficiencia en la producción de leche frente a *Cynodon nlenfuensis*, en gran parte por su menor producción de metano y concluyeron, que para ambas pasturas la producción de metano incrementa a medida que la edad de pastoreo se aumenta. En contraste, Fariani et al (1995) mostraron que la de producción de gas de la fermentación *In vitro* de trébol dulce (*Melilotus officinalis*) y trébol persa (*Trifolium resupinatum*) cosechados en diferentes etapas de crecimiento aumentó a medida que aumentaba el tiempo de incubación y disminuyó a medida que su madurez avanzaba; iguales resultados se encontraron para *L. multiflorum* por cuanto la producción de gas de la fermentación *In vitro* se redujo con el avance de madurez.

5.2. Especies arbustivas

5.2.1. *Thitonia diversifolia*

Nash (1976) citado por Muñoz y Noguera (2003), afirma que el género *Tithonia* comprende 10 especies, todas originarias de México o Centro América. Una de ellas *Tithonia diversifolia* fue introducida a la India. Además, fue descrita por el mismo autor como una planta herbácea de 1.5 – 4 m de altura, con ramas fuertes, hojas alternas pecioladas, las hojas en su mayoría de 7 – 20 cm de largo y de 4 – 20 cm de ancho; con 3 – 5 lóbulos profundos, bordes aserrados, pedúnculos fuertes de 5 – 20 cm de largo, y pétalos amarillos.

Figura 9. Botón de oro (*Thitonia diversifolia*)



Fotografía de Juan Pablo Narvárez. Valle de Sibundoy, 2015.

Un estudio de la fundación CIPAV (2003), menciona que en Colombia ésta planta crece en condiciones agroecológicas desde el nivel del mar (30°C) hasta los 2500 msnm (10°C) y con precipitaciones de 500 hasta 5000 mm / año y en distintos tipos de suelos, desde neutros a ácidos y de fértiles hasta muy pobres en nutrientes.

Su propagación se realiza por estaca de 20 a 30 cm de largo, 2.0 a 3.5 de diámetro y con 3 a 5 yemas. Cuando es por semilla, se debe dejar secar en la planta. Puede sembrarse en semillero o directamente en el campo según lo refiere Gálvez (2007) citado por Padilla (2013).

En el trópico alto colombiano, especies forrajeras como el botón de oro se ha venido posicionando, debido a su buen aporte de nutrientes y a la presencia de metabolitos secundarios según Medina *et al* (2009) citado por Cardona *et al* (2016). Estas características pueden mejorar el balance ruminal de energía y proteína y de paso

disminuir el impacto ambiental por concepto de emisión de gases con efecto invernadero como lo afirman Lezcano *et al* (2012).

Por tal razón Cardona *et al* (2016), en una investigación concluyeron que este arbusto forrajero se puede utilizar como estrategia nutricional para mitigar la producción de metano entérico en bovinos, de igual manera Delgado *et al* (2013), evaluaron *In vitro* el efecto de la especie *T. diversifolia* determinando una disminución de hasta tres veces la población de la bacteria *Archaea metanógena* y una significativa reducción de los protozoarios ruminales. Se asume esta disminución de los organismos del genero *Archaea*, como un efecto directo de la presencia de metabolitos secundarios en el follaje de la especie.

Delgado *et al* (2013), en una investigación sobre la producción de metano de varias especies arbustivas, analizaron *In vitro* el efecto de la inclusión de *Tithonia diversifolia*, en una proporción del 30 y 70% de pasto Estrella (*Cynodon nlemfluencis*) sobre la población de bacterias metanogénicas totales, arrojando valores menores en cuanto a esta población en el tratamiento que incluía mayor proporción de *Tithonia diversifolia*, de $1,24 \times 10$ UFC/ml, comparado con el tratamiento control de pasto Estrella solo, el cual arrojó valores de $1,85 \times 10$ UFC/ml.

Resultados similares fueron encontrados por Galindo *et al* (2011), al evaluar el efecto del uso de botón de oro (*T. diversifolia*) sobre la población de protozoos y metanógenos ruminales en condiciones *In vitro*. La inclusión del 10 y 20% de forraje de botón de oro (*T. diversifolia*) en base seca en la dieta para rumiantes produjo un marcado efecto reductor de la población de protozoos ruminales; además, se mantuvo estable la digestibilidad de la fibra, debido al incremento de las poblaciones de bacterias celulolíticas.

Es claro que el uso de ciertas especies forrajeras y arbóreas tropicales en la alimentación de bovinos, han demostrado una tendencia a disminuir la síntesis de metano, debido a la presencia de un grupo de compuestos llamados metabolitos

secundarios, los cuales al parecer tienen cierto efecto antimetanogénico, además de que aumentan el consumo y la velocidad de paso de los alimentos, mostrando así una importante disminución en la producción de CH₄ por unidad de forraje digerido según lo refieren Navas (2008) y Angarita (2013) citados por Cardona *et al* (2016).

En estudios *In vitro* realizados por Galindo *et al* (2012), evaluaron el efecto del pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*) control, algarrobo (*Samanea saman*), albizia (*Albizia lebeck*) y botón de oro (*Tithonia diversifolia*), sobre la población de metanógenos y ecología microbiana ruminal, concluyendo que el algarrobo, albizia y botón de oro, reducen la población de microorganismos metanogénicos y actúan de manera favorable sobre la ecología microbiana ruminal, al modificar las poblaciones de protozoos, bacterias y hongos celulolíticos.

Hegarty (1999), demostró que los metanógenos viven en el interior o adheridos a la superficie de los protozoos ciliados del rumen, y son responsables de más del 37% de las emisiones de metano. Cuando se minimizan las poblaciones de protozoos, las emisiones de metano del rumen se reducen aproximadamente en un 13%. Este efecto varía con la dieta que consumen los animales. De ahí que el uso de las plantas evaluadas, al producir efecto de disminución en la población de protozoos, constituye una vía promisoría para reducir los microorganismos metanogénicos según lo menciona Galindo *et al* (2014).

De acuerdo con Galindo *et al* (2011), quienes afirman que las bacterias metanogénicas viven de manera endosimbiótica dentro o sobre la superficie de los protozoos. Cualquier factor que disminuya la población protozoaria será capaz de reducir los metanógenos, así como la producción de metano. El empleo de forrajeras, arbóreas y/o arbustivas leguminosas, entre otras, pueden llegar a cumplir este propósito debido a la presencia de metabolitos secundarios, tales como taninos y saponinas capaces de ejercer efectos defaunantes según lo presenta Galindo *et al* (2009) citados por Galindo *et al* (2011). De esta manera al evaluar el efecto de

diferentes niveles de *T. diversifolia*: (A) 0 (control); (B) 10 % y (C) 20 %, y como dieta base pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*) se determinó que la inclusión de 10 y 20 % de esta especie produjo reducciones significativas en la población de metanógenos ruminales, lo que reviste una gran importancia ya que estos microorganismos son responsables de la producción de metano a nivel de rumen.

Este efecto puede tener su origen en la deposición de metabolitos secundarios que posee esta arbustiva: fenoles, taninos, saponinas, entre otros. Además, según Joblin (2004) citado por Galindo *et al* (2011), la respuesta era esperada, debido a que la dieta y principalmente, el contenido de fibra influye en la densidad poblacional de estos grupos microbianos en el rumen. De esa manera, en los sistemas de alimentación basados en gramíneas se observan 10^{-9} – 10^{-10} unidades formadoras de colonias por gramo de líquido ruminal para estos grupos microbianos, lo que se puede modificar mediante el uso de compuestos como taninos, saponinas, alcaloides y, además, productos comerciales. De igual manera se debe considerar el hecho que la inclusión de 20% de *T. diversifolia* en la dieta surtió un efecto defaunante, que contribuyó a reducir la población de metanógenos. Abreu *et al* (2003), Liu (2008) y Galindo *et al* (2009) señalados por Galindo *et al* (2011), demostraron que la presencia de saponinas puede ejercer efectos similares, lo que contribuye a “lavar” del rumen estas poblaciones microbianas.

Finalmente, Cardona *et al* (2017), evaluaron mediante estudios *In vitro* el efecto de la mezcla de botón de oro (*Tithonia diversifolia*), kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y alimento concentrado comercial, con la adición de diferentes niveles de ácidos grasos poliinsaturados, sobre la producción de metano, la digestibilidad de la materia seca y la producción de ácidos grasos volátiles, determinando que el botón de oro (*Tithonia diversifolia*), tuvo una menor producción de metano respecto al kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). De igual manera, al hacer la comparación de todos los sustratos que incluyeron botón de oro, se encontró una menor producción de metano en comparación de aquellos sustratos que no incluyeron la forrajera.

Carmona *et al* (2005) y Galindo *et al* (2012) citados por Cardona *et al* (2017), refieren que la disminución en la producción de metano *In vitro* al incluir forrajeras como el botón de oro (*Tithonia diversifolia*), en dietas para rumiantes, se ha relacionado con un mejor balance de nutrientes en la dieta y la presencia de metabolitos secundarios como los taninos o saponinas.

Cardona *et al* (2017), reporta que una inclusión de botón de oro de solo el 3% del total de la materia seca de la dieta, logra una disminución significativa en la producción de metano, lo que evidencia un potencial viable de esta especie para la mitigación de las emisiones de metano en bovinos, pastoreando sistemas silvopastoriles en trópico de altura.

5.2.2. *Leucaena leucocephala*

Solorio y Solorio (2002) citados por Petit *et al* (2010), mencionan que en muchas zonas de los trópicos subhúmedos y semiáridos, la producción ganadera se ve limitada por la escasez y la mala calidad de forraje durante la estación seca, aunado al bajo contenido de proteína cruda, la cual es la limitante más común de la producción ganadera de los sistemas tradicionales y extensivos. Por tal motivo se han establecido áreas sembradas de leguminosas arbóreas tropicales en donde se ha utilizado con éxito a la especie *Leucaena leucocephala* como suplemento alimenticio para el ganado bovino.

Moreno (2005) afirma, que es un arbusto perenne de crecimiento rápido y de uso múltiple, con buen potencial para la producción de leña y forraje.

Según Pérez y Guerrero (1985) citados por Ruiz Cervantes (1996), la importancia de esta especie tiene una fuerte cualidad como recurso pecuario, en relación a su alto valor nutritivo; según Moreno (2005), la *Leucaena leucocephala* proporciona forraje de alto valor con un 20 a 30% de proteína integrado por varios aminoácidos

esenciales, los cuales están presentes en proporciones balanceadas y son comparables a los de la alfalfa (*Medicago sativa*).

Para Nas (1977) citado por Ruiz Cervantes (1996), en la formación de un banco de proteínas con leguminosas, la *Leucaena leucocephala* es probablemente la especie que ofrece una mayor probabilidad de introducción por su adaptabilidad a las condiciones tropicales ya que esta planta tiene una gran posibilidad como alimento en la nutrición animal, sumada su capacidad para soportar grandes cargas de pastoreo, además es de las pocas leguminosas que pueden ser utilizadas para corte y pastoreo.

Figura 10. *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*)



Fotografía de Juan Pablo Narváez. Tumaco - Nariño, 2014.

Cardona *et al* (2016), reportan que el forraje de *L. leucocephala* registra la presencia cuantiosa de taninos y una presencia notoria de saponinas; según Molina Botero *et al* (2013), el forraje de esta especie contiene hasta un 10% de taninos condensados, por lo cual concluyen que la inclusión de *Leucaena leucocephala* en la dieta de bovinos en pastoreo, reduce las emisiones de metano.

En cuanto a las saponinas, Thagaard (2007) citado por Vélez *et al* (2014), manifiesta que estas permiten disminuir la metanogénesis indirectamente al reducir la población de protozoarios por defaunación, los cuales están asociados a las bacterias metanógenas y cuya relación puede generar 9 a 37% de las emisiones totales de metano. En concordancia con lo anterior, Tan *et al* (2011) citados por Cardona *et al* (2016), quienes evaluaron *In vitro* el efecto de diferentes niveles de taninos condensados extraídos de *L. leucocephala* (0, 15, 20, 25 y 30 ml), la producción de CH₄ (ml/g MS) y las poblaciones de *Archaea metanogénica* y protozoos, registraron una reducción lineal con el incremento en el nivel de taninos.

Otra manera por la cual se ha analizado y registrado los resultados en cuanto a la reducción de las emisiones de metano, es la inclusión de leguminosas en dietas basadas en gramíneas; bajo este argumento Molina *et al* (2013) citados por Vélez *et al* (2014), determinaron mediante estudios *In vitro* e *In vivo*, que la inclusión de *L. leucocephala* en dietas a base de gramíneas puede reducir la emisión de metano en bovinos hasta un 8%. Lo antedicho es congruente con la información registrada por Molina Botero *et al* (2013), quienes concluyeron que la producción de metano *In vitro* generada bajo diferentes niveles de inclusión de *L. leucocephala* (10,20 y 30%), se relaciona con la calidad nutricional del alimento y obedece a diferencias en los contenidos de nutrientes, donde a menor porcentaje de *L. leucocephala* mayor producción de metano.

5.2.3. *Gliricidia sepium*

Elevitch & Francis (2006) citados por Cuervo *et al* (2013), describen al *Gliricidia sepium* como una especie originaria de Centroamérica y el Norte de Suramérica, desde donde se ha distribuido para toda la América Tropical, el Caribe, África, Asia y las islas del Pacífico.

Según Gomez *et al* (2002), *Gliricidia sepium* es una especie muy dinámica utilizada como planta medicinal ya que sus hojas son usadas como expectorante; es una planta melífera ya que su floración es muy llamativa y frecuentemente visitada por abejas, también se ha documentado su uso como soporte en cultivos de pimienta negra en Costa Rica, para maracuyá en Sri Lanka, para vainilla en Uganda y en Filipinas los troncos viejos de *G. sepium* sostienen orquídeas.

Figura 11. Matarratón (*Gliricidia sepium*)



Fotografía de Juan Pablo Narváez. Tumaco - Nariño, 2014.

Para Cuervo *et al* (2013), las cualidades más destacables de *Gliricidia sepium* radican en su alto potencial productivo, en cultivos intensivos como planta forrajera.

Gómez *et al* (2002), afirman que, mediante la fijación de nitrógeno, la hojarasca y los residuos de la cosecha se mantiene un sistema eficiente de reciclaje de nutrientes y se mejora la fertilidad y la producción de esta especie y del medio donde se cultiva, así como de las especies que surjan a su alrededor.

Para Galindo *et al* (2014), quienes estudiaron el efecto del follaje de plantas tropicales sobre la población de protozoos del rumen, se logró constatar que todas las plantas estudiadas consiguieron reducir la población de protozoos; sin embargo, dentro del grupo de especies estudiadas se destacaron *Samanea saman*, *Azadirachta indica*, *Moringa oleífera*, *Leucaena leucocephala*, *Gliricidia sepium* y *Tithonia diversifolia*.

De igual forma Galindo *et al* (2011) citados por Galindo *et al* (2014), encontraron que los protozoos del rumen tienden a disminuir ante la presencia del follaje de *Leucaena leucocephala*, *Gliricidia sepium* y *Tithonia diversifolia*. Por lo antedicho es posible afirmar que *Gliricidia sepium*, puede disminuir las emisiones de metano por la acción moduladora que ejerce sobre la microbiota ruminal, ya que según infiere Morgavi *et al* (2010) citados por Hristov *et al* (2013), las relaciones protozoarios-metanógenos son el ejemplo típico de las interacciones afines con la producción de metano en el rumen por cuanto la supresión de los protozoarios puede disminuir la metanogénesis debido a que ellos transfieren 2H a través de la producción de H₂ y formato.

Al respecto Hegarty (1999) citado por Sosa *et al* (2007), indican que los metanógenos que viven en el interior o adheridos a la superficie de los protozoos ciliados del rumen, son responsables de más del 37 % de las emisiones de metano y en ausencia de protozoos, las emisiones de metano se reducen alrededor de 13%.

De acuerdo con lo antedicho, Galindo *et al* (2011) y Hess *et al* (2003) citados por Sosa *et al* (2007), reportaron que en cuanto a las especies empleadas con estos fines se encuentran *G. sepium*, *E. cyclocarpum* y *P. saman*. Sin embargo, sólo *G. sepium* consiguió disminuir el conteo de protozoos y la emisión diaria de metano respectivamente.

Meale *et al* (2012), en estudios sobre la emisión de metano producto de la fermentación ruminal, manifestaron que fueron diversas especies aquellas que pudieron modular favorablemente la fermentación ruminal para producir concentraciones de CH₄ inferiores, y se caracterizó a *G. sepium* y *B. ruzizensis*, como aquellas que produjeron cantidades moderadas de CH₄ en comparación con otras especies en su tipo. De forma particular, tanto *G. sepium* y *B. ruzizensis*, produjeron la mayor proporción de propionato, y las relaciones más bajas de acetato: propionato.

5.3 Especies arbóreas

5.3.1. *Sapindus saponaria*

Según Mahecha & Echeverri (1983) citados por Sanchez y Silva (2008), *Sapindus saponaria* es una especie nativa ampliamente distribuida en Colombia que crece desde el bosque húmedo tropical hasta el bosque seco tropical, incluyendo las transiciones de estas zonas de vida, también se presenta en bosques abiertos húmedos o secos, o en orillas, frecuentemente plantado junto a las casas. Por su parte Flechas *et al* (2009), mencionan que *S. saponaria* es un árbol mediano de flores pequeñas y pétalos blancos fragantes; los frutos son drupas esféricas, con pericarpio amarillo y translúcido y las semillas son negras y redondas. Puede ser utilizado como barrera, especialmente contra vientos fuertes; también como sombrío y en separadores amplios y en programas de reforestación. La madera es muy dura y pesada de textura áspera y poco durable a la intemperie.

Figura 12. Jaboncillo (*Sapindus saponaria*)



Fuente: DiarioEcología.com 2014.

Según Mahecha & Echeverri (1983) citados por Sánchez y Silva (2008), las plantas de *S. saponaria* se adaptan a una gran variedad de suelos desde calizos hasta volcánicos, y puede crecer tanto en bosques secos como húmedos, desarrollándose bien en terrenos secos y oligotróficos, es decir de pocos nutrientes y pobres en materia orgánica. Adicionalmente Aragón *et al* (2007), citados el mismo autor explican que *S. saponaria* tiene un alto valor en la farmacia lo cual le confiere una rentabilidad atractiva para su industrialización.

Según Galindo (2004) citado por Gonzales y Cairo (2007), una de las alternativas que posibilita disminuir las emisiones de metano es aquella que permite manipular la fermentación ruminal mediante el contenido de metabolitos secundarios presentes en follajes de árboles y arbustos tropicales con valor nutritivo promisorio. Bajo este postulado Abreu *et al* (2003), evaluaron el efecto del fruto, del pericarpio

y el extracto semipurificado de saponinas de *S. saponaria* sobre la fermentación ruminal y la metanogénesis *In vitro*, reportaron el efecto negativo sobre la población de protozoos ciliados ruminales que además fue congruente con ensayos anteriores en los cuales se reportó el un efecto similar del pericarpio y del fruto completo de *S. saponaria* sobre la población de protozoos ciliados. Según Klita *et al* (1996) citados por Abreu *et al* (2003), lo antedicho podría explicarse por el efecto negativo de las saponinas sobre los protozoos ciliados, el cual genera un cambio masivo en la permeabilidad de la membrana celular debido a la formación de complejos con algunas proteínas de membrana, aunado a que los protozoos, son especialmente susceptibles a este cambio en las propiedades de la membrana celular.

En investigaciones similares Hess *et al* (2003) citados por Abreu *et al* (2003), obtuvieron una disminución de 14% en la liberación diaria de metano *In vitro* al agregar 100 g/kg de fruto de *S. saponaria* al sustrato incubado en líquido ruminal faunado. Por su parte Gonzales y Cairo (2007), encontraron diferencias en la producción de metano al evaluar la presencia de este gas al adicionar *S. saponaria* a la fermentación *In vitro* de *Pennisetum purpureum*, con valores de 6.02, 7,13 y 14.72 ml de metano para *S. saponaria*, *S. saponaria* en mezcla con *P. purpureum* (25 -75 %) y *P. purpureum* respectivamente. Los mismos autores sugieren emplear el follaje de *S. saponaria* como manipulador de la fermentación ruminal para disminuir la producción de metano.

5.3.2. *Morus alba*

Según Sibuya-ku (1975) citado por Muñoz y Noguera (2003), la Morera es originaria de la China o de la India; es una planta dicotiledónea, de la familia Morácea con 4 subfamilias, 55 géneros y cerca de 950 especies.

Esta especie se ha utilizado para la alimentación de gusano de seda y animales herbívoros, especialmente para cuyes y conejos, los cuales reciben dietas de morera (*Morus alba*) en mezcla de pasto King grass, maíz, guatemala, imperial, etc. Caycedo (2000) citado por Muñoz y Noguera (2003), mencionan que *Morus alba* es una moracea de 2 – 6 m. de altura, cuyas hojas tienen contenidos altos de proteína, es un árbol perenne decíduo, con hojas alternas, los bordes de las hojas aserrados, la estipula de la hoja es pedical y con una salida temprana, hojas lanceoladas, con frutos múltiples en forma de mora.

Figura 13. Morera (*Morus alba*)



Fuente: DiarioEcología.com 2014.

Esta especie puede crecer bajo diferentes condiciones de clima, tanto en zonas templadas como tropicales, se adapta bien en suelos de baja fertilidad con un clima seco. Su propagación se puede realizar por método sexual el cual no es generalmente recomendado ya que existe muy poco control sobre la calidad de los

árboles producidos, por lo tanto, los métodos más comúnmente empleados son los asexuales (injertos, acodo, estacas) según lo afirman Muñoz y Noguera (2003).

Según Ramakrishna y Aswathanarayana (2011) citados por Vélez *et al* (2014), las plantas producen una gran variedad de compuestos bioactivos y metabolitos secundarios como medio de defensa al ataque de insectos, microorganismos y de adaptación a ambientes adversos (temperatura, humedad, intensidad de luz, sequia, etc.). Entre los metabolitos que han demostrado influir en la producción de metano se encuentran: saponinas, taninos, compuestos organosulfurados, aceites esenciales, ligninas, alcaloides, antioxidantes etc., como lo reportan Patra y Saxena (2010).

Delgado *et al* (2007), sugieren que la mezcla de gramíneas con un 25% de leguminosas como *Trichantera gigantea* y *Morus alba* mejoran el uso de la energía en los rumiantes y reducen la producción de metano entre 31 y 27%. Además, Rodríguez *et al* (2013) citados por Vélez *et al* (2014), evaluaron el efecto de extractos vegetales de tres especies arbóreas (*Sambucus nigra*, *Tithonia diversifolia*, *Morus alba*) sobre la emisión de metano y encontraron que niveles de inclusión entre 100 y 500 ppm permitieron reducir las emisiones un 20%, convirtiéndose en una alternativa viable para ser usados como aditivos en dietas para rumiantes.

Delgado *et al* (2007), determinó el efecto inhibitorio del follaje de *Trichantera gigantea* y *Morus alba* en la producción de metano, conformando cinco tratamientos: *Pennisetum purpureum* vs Cuba CT-115 (T1- control), follaje del *Trichantera gigantea* (T2), follaje de *Morus alba* (T3), mezcla *Trichantera:Pennisetum* (25:75) (T4) y mezcla *Morus:Pennisetum* (25:75) (T5). En este estudio se identificó que *Pennisetum purpureum* produjo 13.48 ml de este gas, pero al mezclarlo con 25% de cualquiera de los follajes, no sólo mejoró el valor nutricional de la ración al incrementarse el valor proteico, sino que se redujo la cantidad de metano producido en ml/g de MS fermentada en más del 27%, con respecto al forraje solo. Los follajes

de *Morus alba* y *Trichantera gigantea* produjeron menos metano que la gramínea sola o sus mezclas (7.52 y 5.62 ml, respectivamente). El mismo autor, manifiesta que estos resultados se atribuyen, principalmente, a la presencia de compuestos secundarios en algunos forrajes, de los cuales se presume tener propiedades antimetanogénicas, específicamente taninos y las saponinas.

Scull (2004) citado por Delgado *et al* (2007), realizó un análisis fitoquímico al forraje de *Morus alba* estableciendo altos niveles de saponinas, lo que parece justificar el efecto antimetanogénico que se observó en esta planta.

Similares resultados obtuvieron Gonzales *et al* (2012), al evaluar el efecto de diferentes niveles de inclusión de morera (*Morus alba*) en la reducción de la metanogénesis ruminal en búfalos de río, se realizó una fermentación *In vitro*, en una dieta basada en pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*). En este estudio a partir de las cuatro horas de fermentación, los tratamientos que incluyeron esta variedad de *Morus alba* comenzaron a disminuir el volumen de metano ruminal, con respecto al tratamiento control. El nivel de 30% de inclusión fue el que menos metano produjo, y representó una producción de este gas 3.8 veces menor con respecto al control.

Según Russel (1998), la producción de metano se relaciona con la razón acético/propiónico en el rumen. Las mayores producciones de metano se asocian con una tendencia a mayor relación acético/propiónico en el rumen y viceversa. La relación acético-propiónico fue de 4.74, 4.14, 4.51, 4.47 y 3.93 para los niveles de inclusión de *M. alba* de 0, 15, 20, 25 y 30 %, respectivamente. Es decir, el menor valor correspondió a 30 % de inclusión de morera. Esto explica la menor cantidad de metano que se produjo con este nivel.

Es importante señalar que en la vía de formación del ácido acético se libera hidrógeno, el cual se utiliza por los metanógenos para formar metano según lo manifiestan Attwood y McSweeney (2008), Cheng *et al* (2009) y Kobayashi (2010)

citados por Gonzales *et al* (2012). Por tanto, a menor formación de acético, menos producción de este gas. Aunque en los resultados encontrados por Gonzales *et al* (2012), no hubo diferencias estadísticas en la concentración de acético para los tratamientos en estudio, disminuyó a medida que se incrementó el nivel de inclusión de *M. alba*, hasta 30 %, esto se reflejó en la reducción de la producción de metano.

5.3.3. *Guazuma ulmifolia*

Pérez (2010), afirma que *Guazuma ulmifolia* es un árbol de porte pequeño a mediano que puede alcanzar su altura máxima hasta 15 metros, su copa es redonda y extendida; su tronco es torcido y ramificado, con hojas simples, alternas, ovaladas y lanceoladas. Sus flores son pequeñas, amarillas y se agrupan en panículas. El mismo autor infiere que *G. ulmifolia* tiene una gran variedad de usos por cuanto produce leña de alta calidad, carbón y forraje, así como madera para carpintería general y construcción rural, también es un árbol importante en sistemas silvopastoriles ya que el forraje y los frutos son altamente nutritivos y apetecidos por el ganado.

Según De la Rosa (2012), las hojas y frutos son *G. ulmifolia* son palatables y comestibles para el ganado, la digestibilidad *In vitro* de la materia seca de las hojas jóvenes y tallos se encuentra entre 56 al 58% y 31 al 36%, respectivamente, y en cuanto al contenido de proteína cruda en las hojas jóvenes, este oscila entre 16 al 23% y tallos de 7.8%, respectivamente.

También se ha registrado que *G. ulmifolia* puede substituir al maíz en un 12% en las dietas de uso práctico para la alimentación de aves de corral sin perjuicio de su crecimiento y sin que esto altere la eficiencia de utilización de la ración en forma significativa.

Figura 14. Guazimo (*Guazuma ulmifolia*)



Fuente: Mauricio mercadante, 2012.

Como se ha mencionada anteriormente algunas estrategias de mitigación de las emisiones de metano entérico utilizadas incluyen el uso de leguminosas arbóreas y arbustos integrados en los sistemas silvopastoriles. Al respecto Benaouda *et al* (2017), infieren que los arbustos mejoran la calidad nutricional de la dieta del ganado en pastoreo, mediante el aumento de la concentración de proteína, y reduce la producción de metano por efecto de los metabolitos secundarios como taninos y saponinas presentes en las plantas.

Mayorga *et al* (2014) citados por Benaouda *et al* (2017), evaluaron a *G. ulmifolia*, sobre la emisión de metano por novillos Cebú de 10 meses de edad y 191 kg de peso vivo y encontraron que la adición de 30% *G. ulmifolia* en una dieta basal del forraje *Panicum maximum* reduce la emisión de metano a 320 L por animal / día en comparación con la dieta control que produce 368 L por animal / día. Estos resultados pueden explicar el papel que juega el suministro de *G. ulmifolia*, el cual

por ser un complemento de nitrógeno y un agente defaunante potencial actúa sobre la disminución de la producción de metano.

Por su parte De la Rosa (2012), quien estudio la emisión de gases de efecto invernadero en un sistema *In vitro* de fermentación ruminal con la inclusión progresiva de *G. ulmifolia* registró que la cantidad de gases fue reduciendo medida que se aumentó la cantidad de *G. ulmifolia* y disminuyó la cantidad de pasto en los tratamientos T3 (40% *G. ulmifolia* + 50% *C. nlemfuensis* + 10% Alimento concentrado) y T4 (60% *G. ulmifolia* + 30% *C. nlemfuensis* + 10% Alimento concentrado) con valores de 12,45 y 11,29 ml de metano para el tratamiento 3 y tratamiento 4 respectivamente. Con respecto a estos resultados el mismo autor infiere que existe una tendencia mayor en cuanto a producción de gases totales en los tratamientos a base de *C. nlemfuensis* por acción de la baja calidad nutricional y la ausencia de metabolitos secundarios.

6. Metodologías para la determinación de producción y emisiones de metano generado por la ganadería bovina.

Según Carmona *et al* (2005), para desarrollar estrategias que mitiguen las emisiones de metano por parte de la ganadería debe ser posible cuantificar estas emisiones bajo un amplio rango de condiciones. En la actualidad existen diversas opciones para cuantificar las emisiones de metano *In vivo*, *In situ* e *In vitro*. Se pueden utilizar técnicas con cámaras cerradas o métodos con trazadores para realizar muestreos a nivel individual o grupal. Johnson y Johnson (1995), aseguran que el metano puede ser medido usando espectroscopia infrarroja, cromatografía de gases, espectroscopia de masa y técnicas de diodo láser.

6.1. Técnicas de medición

6.1.1. Técnicas cerradas

Johnson y Johnson (1997), afirman que las técnicas calorimétricas de respiración tales como las cámaras cerradas, cajas en la cabeza, o capuchas ventiladas y máscaras faciales han sido usadas con efectividad para la determinación de las emisiones de metano.

Dichas emisiones son determinadas por la medición del flujo total de aire por el sistema y la diferencia en la concentración entre el aire inspirado y espirado. En las cámaras, la mayor ventaja radica en las mediciones de metano tanto proveniente de la fermentación ruminal como de la fermentación del tracto posterior. Las desventajas de esta técnica involucran: los costos de construcción y de mantenimiento, la restricción de movimiento de los animales y la alta mano de obra.

Además, Mc Caughey *et al* (1997) y Kinsman *et al* (1995), afirman que la mayoría del ganado en zonas tropicales se encuentra bajo pastoreo los 12 meses del año, lo que implica amplias diferencias de comportamiento alimenticio y cinética ruminal que pueden afectar el consumo voluntario y la tasa de pasaje, difiriendo así, de lo observado en los sistemas cerrados tipo cámaras metabólicas.

6.1.2. Técnicas con trazadores. Según Carmona *et al* (2005), las técnicas con trazadores isótopos y no isótopos son útiles. Los métodos con isótopos involucran el uso de [3H-] metano o [14C-] metano y animales canulados a rumen. La mayor limitación con trazadores isótopos es la dificultad en la preparación de la solución por la baja solubilidad del metano. Las técnicas con trazadores no isótopos también son útiles en la medición de producción de este gas. Un ejemplo de estas técnicas es el exafluorosulfuro (SF₆), un gas trazador inerte colocado en el rumen.

Estas técnicas tienen la ventaja que no limitan al animal en su comportamiento normal en pastoreo. Respecto a esta técnica McCaughey et al (1999) y De Ramus et al (2003), reportan que puede determinar del 93-98% del total de metano producido, comparado con las cámaras de respiración.

De Ramus *et al* (2003), señalan que esta técnica es sencilla, en la cual muestras de gas eructado son continuamente obtenidas a través de un tubo capilar, conectado a un colector localizado en el cuello del animal. Luego de la recolección de las muestras el colector es presurizado con nitrógeno (N₂) y con cromatografía de gases se determina el metano y el SF₆.

6.1.3. Modelos de predicción de las emisiones de metano en rumiantes. Blaxter y Clapperton (1965) citados por Delgado y Narváez (2011), establecieron el primer modelo para la estimación de la producción de CH₄ en rumiantes (Y_m, Kcal CH₄/100Kcal EBi), a partir de datos obtenidos en ovinos adultos consumiendo forrajes y utilizando como predictores la digestibilidad de la energía de la ración (dE, %) y el nivel de alimentación (L, en múltiplos del nivel de mantenimiento, L = 1).

$$Y_m = 1,30 + 0,112 \text{ dE} + L (2,37 - 0,05 \text{ dE})$$

Conforme a lo estipulado por Johnson y Johnson (1997), la particularización de la ecuación muestra un efecto positivo de la dE del forraje y negativo del L sobre Y_m. No obstante, la extrapolación de estos resultados a dietas prácticas debe hacerse con precaución al no haberse incluido información procedente de raciones mixtas con concentrado en animales de alta producción.

Así, el rango de valores de Y_m predichos por la ecuación en un intervalo de dE y L correspondientes a dietas prácticas se encuentra en un 6 y 8%, cuando los valores obtenidos *in vivo* tienen una variación considerablemente superior (2 – 11%),

Una aproximación alternativa para estimar las emisiones de metano (CH₄, Mcal/d) en rumiantes propuesta por Moe y Tirrel (1979), a partir de 404 balances de energía en bovinos adultos, utilizando como predictores las ingestiones de nutrientes brutos o digestibles (Kg/d). Las ecuaciones fueron calculadas mediante una selección de variables (método stepwise), y fueron las siguientes:

a. Nutrientes brutos

$$\text{CH}_4 = 0,814 + 0,122 \times \text{CNF} + 0,415 \text{ HEL} + 0,633 \text{ CEL}; R^2 = 0,67$$

b. Nutrientes digestibles

$$\text{CH}_4 = 0,439 + 0,273 \times \text{CNF} + 0,512 \text{ HEL} + 1,393 \text{ CEL}; R^2 = 0,73$$

CFN = Carbohidratos no fibrosos

HEL = Hemicelulosa

CEL = Celulosa

Como lo describen Moe y Tyrrell (1967) citados por Delgado y Narváez (2011), los resultados reflejan que los precursores para la producción de metano son principalmente los hidratos de carbono y que existen diferencias notables debidas al tipo de carbohidrato: 6,5; 11,5; 33,6 Kcal CH₄/100 Kcal de CNF, HEL y CEL digestibles, respectivamente. También indican que la precisión de la ecuación aumenta cuando se tienen en cuenta las diferencias de digestibilidad entre alimentos. Sin embargo, esta información no siempre está disponible ni es fácil de estimar.

6.2. Ecuaciones de predicción. Carmona *et al* (2005), afirman que un método desarrollado en 1960 por Wolin, permite calcular las emisiones de metano a través de la distribución molar de los AGV. El balance fermentativo se ha usado para predecir la producción de metano por la conversión de carbohidratos de la dieta a

AGV. Esta metodología asume que todo el exceso de H₂ es convertido en metano y no hay hidrógeno asociado con la síntesis de células microbiales y que de la fermentación de los sustratos no carbohidratados no se producen AGV. Van Kessel y Russell (1996), indican que cuando las células microbiales son incluidas en la estequiometría de la fermentación, los estimativos de la producción de metano disminuyen. Como es lógico esta técnica es criticada por muchos autores, pero es útil para propósitos comparativos.

En común acuerdo con Johnson y Johnson (1995), las características del alimento también se usan para calcular la producción de metano. La ecuación de Blaxter y Claperton formulada en 1965, consideró inicialmente las características del alimento y es la base de la cual la mayoría de los estimativos de producción de metano se han derivado. Otra ecuación fue propuesta por Moe y Tyrrel en 1979, la cual también incorpora las características del alimento. Se deriva de mediciones realizadas en ganado con raciones diarias de alta calidad y su relación con residuos solubles, hemicelulosa y celulosa en la producción de metano.

6.3. Métodos fermentativos *In vitro*. Según Carmona *et al* (2005), los estudios en fermentación y digestión juegan un papel crucial en los estudios nutricionales y fisiológicos en rumiantes. Desde la década de los 50's muchos métodos han sido desarrollados para simular el ecosistema ruminal. Aunque los estudios *In vivo* han sido de gran importancia, las simulaciones *In vitro* del medio ambiente ruminal son frecuentemente efectivas y eficientes por su rapidez y bajo costo de operación.

Kajikawa (2003), afirma que además porque se pueden definir factores específicos, que en condiciones *In vivo*, pueden ocultarse por una gran complejidad de factores.

Dentro de las técnicas más conocidas *In vitro* están la de Tilley y Terry implementada en 1963, o sus diversas modificaciones. Entre algunas desventajas

de estos métodos se tienen: largo tiempo requerido para realizar un análisis, la gran cantidad de pasos y que la muestra no tiene flujo de recambio.

6.4. Rusitec (Rumen Artificial). Esta es una de las técnicas *In vitro*, que cuenta con modificaciones que permiten una mayor similitud a las características del ecosistema ruminal. Kajikawa *et al* (2003), indican que en la década de los 70's se desarrollaron dos de los sistemas de flujo continuo más implementados por los investigadores: el sistema de cultivo de flujo continuo doble originalmente desarrollado por Hoover *et al* y el Rusitec desarrollado por Czerkawsky y Breckenridge.

Esta última metodología, ha demostrado una adecuada correlación con los datos obtenidos *In vivo*, involucrando como ya se mencionó, mayor rapidez y menos costos, además de una mayor independencia de animales canulados.

Figura 15. Cánula ruminal en bovinos.



Fotografía de Juan Pablo Narváez. Palmira Valle del Cauca, 2011.

Según Carmona et al (2005), diversos autores reportan el diseño del equipo y la metodología de su uso, pero no existe un manual unificado, debido a que su principal restricción está en que no es un equipo comercialmente disponible.

De acuerdo con Johnson y Johnson (1995), en términos generales el Rusitec, es un equipo que normalmente consiste de ocho sistemas de flujo continuo donde interactúan la fase líquida y sólida del rumen (obtenida del rumen de animales donadores), las muestras a analizar (confinadas en bolsas de nylon) y un sistema buferante o de saliva artificial que permite en el sistema un control del pH, a través de sus componentes tipo carbonatos y fosfatos. En cada sistema compuesto por vasos secuenciales (generalmente con una capacidad aproximada de un litro) se colocan más o menos 500 ml de fluido ruminal con 200 ml de saliva artificial y 100 ml de agua, posteriormente agregando agua hasta un nivel total de un litro. Inicialmente, una porción sólida de contenido ruminal se adiciona (80 a 100 g/l) para garantizar una fuente de microorganismos que habitan en esta fracción.

Czerkawsky y Breckenridge (1977) citados por Carmona et al (2005), sugieren que un período de acople en la fermentación entre cuatro y seis días debe ser adecuado, aunque hasta 11 días se requieren en algunos casos cuando se evalúan dietas de baja calidad. Una semana de período de adaptación es probablemente suficiente para dietas de buena calidad.

En la descripción establecida por Abreu et al (2003), dentro de muchas mediciones, se encuentra la determinación de producción de gases en el sistema. Producto de la fermentación se produce en un tiempo determinado; un volumen de gas que es almacenado de forma individual por fermentador en bolsas con película de fluoropolivinil. La producción de metano presente en el volumen total de cada bolsa, se determina por diferentes métodos, siendo la cromatografía de gases el más utilizado en este caso. Para obtener este efecto las bolsas se acoplan al sistema

cromatográfico, en donde se determina el porcentaje de gas en la muestra y se valora la cantidad total teniendo en cuenta el volumen total de gas en la bolsa.

6.5. Técnica In vitro de producción de gases. Como afirma Álvarez (2000), las técnicas de producción de gas son de mucho interés en la valoración de los animales por su habilidad para evaluar las dinámicas de digestión y su potencial para simular los procesos de digestión en el rumen. La técnica de producción de gas In vitro caracteriza los alimentos por su cantidad digestible de carbohidratos y por la tasa a la cual estos nutrientes son liberados.

Figura 16. Montaje para la técnica *In vitro* de producción de gases.



Fotografía de Juan Pablo Narváez. Palmira Valle del Cauca, 2011.

Getachew (1968), señala que por lo tanto este sistema hace útil evaluar rutinariamente los forrajes porque produce resultados con alta precisión y repetición. Recientemente, las técnicas de producción de gas, han sido de mucho interés y se ha incrementado su utilización gracias a la facilidad y utilidad de datos sobre la

cinética de la digestión tanto de las fracciones solubles como las insolubles en dietas basadas en forrajes.

Para Álvarez (2000), la técnica de producción de gas *In vitro* es utilizada para evaluar el valor nutricional de los alimentos y para obtener un mejor conocimiento de los procesos de fermentación que ocurren frecuentemente en el rumen, ya que la esencia de esta técnica es simular la fermentación de éste.

Figura 17. Medición de la presión de gas acumulado por medio de la técnica *In vitro* de producción de gases.



Fotografía de Juan Pablo Narváez. San Juan de Pasto, Nariño, 2012.

7. Conclusiones

Los sistemas de producción ganaderos en la actualidad se desarrollan bajo modelos extensivos, donde se aprovecha indiscriminadamente los recursos naturales y en su gran mayoría se descuida el aporte nutricional de la dieta base, en la presente revisión bibliográfica se concluye que las especies forrajeras, arbóreas y arbustivas analizadas, contienen propiedades químicas y nutricionales las cuales se pueden utilizar como alternativa viable para mitigar las emisiones de metano por parte del ganado bovino.

Las leguminosas arbóreas utilizadas como árboles forrajeros además de su alto contenido de metabolitos secundarios como taninos y saponinas tienen la capacidad de recircular nitrógeno a través su metabolismo, el cual puede escapar a la degradación ruminal (por acción de los taninos), convirtiéndose en fuente importante de proteína sobre pasante con beneficios productivos para los rumiantes.

Según las investigaciones de varios autores, se confirmó que *Gliricidia sepium* y *Lolium multiflorum* poseen un potencial alto para disminuir las emisiones de metano, ya que la producción significativa de AGVs producto de su fermentación, ácido propiónico en este caso, es considerado como uno de los aceptores de hidrogeno; utilizándose como estrategia para redirigir el hidrógeno hacia los procesos que generan productos beneficiosos para el rumiante.

Los taninos condensados e hidrolizables, están distribuidos ampliamente en las ramas y en los forrajes de las especies arbóreas y arbustivas de climas cálidos, según la literatura este tipo de metabolitos están presentes en *Leucaena leucocephala* y *Guazuma ulmifolia*, por lo cual es posible afirmar que estas dos especies influirán de manera negativa sobre la producción de metano ruminal.

Se concluye que las hojas, el fruto y el extracto de *Sapindus saponaria* tiene un fuerte potencial para mitigar la generación de metano por cuanto se han desarrollado varias investigaciones las cuales resaltan su efecto para manipular la fermentación ruminal mediante el contenido de metabolitos secundarios, en este caso saponinas.

Dentro del grupo de metabolitos secundarios los taninos condensados presentes naturalmente en muchas especies vegetales han permitido a través de diferentes mecanismos reducir la emisión de metano, sobre todo porque estos disminuyen la población total de los protozoos asociados a los metanógenos en el rumen. Según las investigaciones analizadas tanto la especie *Lotus corniculatus*, incluida en la dieta de bovinos fue asociada con 16-25% menor emisión, igualmente para *Tithonia diversifolia* donde con una inclusión de 10 y 20% produjo reducciones en la población de metanógenos ruminales. Es claro que la inclusión de estas especies en la dieta de los animales puede contribuir a disminuir la emisión de metano y con ello su impacto ambiental.

En algunos estudios citados se determinó que las mezclas entre gramíneas y leguminosas no sólo redujeron la cantidad de metano producido, sino que también mejoró el valor nutricional de la dieta al incrementarse el contenido de proteína. Entre ellos, las dietas evaluadas con follajes de *Morus alba* y *Gliricidia sepium*, produjeron menores cantidades de metano que la gramínea sola, producto de la presencia de compuestos secundarios y sus propiedades antimetanogénicas; en especial taninos y saponinas.

En los diferentes estudios *in vitro* analizados se identificó que varias especies forrajeras y especialmente las arbustivas inciden en la reducción de la población de metanógenos (por efecto de los metabolitos secundarios en este caso saponinas) y ejercen efectos sobre la ecología microbiana ruminal, al modificar las poblaciones

de protozoos, bacterias y hongos celulolíticos. Convirtiéndose en una parte importante de estudio ya que estos microorganismos son responsables de la producción de metano y de las pérdidas energéticas a nivel de rumen.

8. Recomendaciones

Se recomienda, de acuerdo a la información analizada en este documento, realizar estudios *In vitro* con especies forrajeras, arbustivas y arbóreas propias de las zonas de vida donde se desarrolle la actividad ganadera, con el objetivo de tener un estimativo que permita valorar claramente la disminución los gases con efecto invernadero como el metano, corroborando los datos presentados por varios investigadores, en pro de mejorar el rendimiento productivo de los bovinos como la protección del medio ambiente.

Los sistemas silvopastoriles se convierten en una alternativa viable, los aportes nutricionales y de compuestos químicos que estos brindan dependiendo la especie que se utilice mejoran la dieta de los rumiantes, además de los múltiples beneficios sobre las propiedades del suelo donde se implementan y cabe destacar los servicios adicionales que ellos prestan como sombra y cercas vivas. Es por esta razón que se recomienda la sensibilización al ganadero o productor sobre la importancia y aplicación de estos, sobre el mejoramiento de los parámetros de fermentación ruminal y emisiones de metano, así como el efecto beneficioso sobre las praderas y el bienestar animal.

Se recomienda realizar análisis químicos proximales de las praderas, así como también del follaje de arbustos y árboles nativos utilizados en la alimentación animal, con el objetivo de cuantificar las emisiones de metano. Una de las técnicas sugeridas es la técnica *In vitro* de producción de gases, la cual permite analizar varias muestras ya sea solas o en mezcla con los otros componentes de la dieta, además realizar análisis fitoquímicos cuantitativos y cualitativos de metabolitos secundarios que permitan identificar y valorar el potencial de reducción de las emisiones de metano de dichas especies vegetales y así emitir recomendaciones útiles y con fundamento técnico para pequeños y grandes productores.

9. Bibliografía

- Abreu A, Carulla JE, Kreuzer M, Lascano CE, Díaz TE, Cano A, Hess HD. (2003). *Efecto del fruto, del pericarpio y del extracto semipurificado de saponinas de Sapindus saponaria sobre la fermentación ruminal y la metanogénesis in vitro en un sistema RUSITEC. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 16(2): 147-154.
- Alvarado Narváez RA, Paz Roby MF. (2004). *Evaluación del arreglo árboles dispersos en asociación con pasto kikuyo (Pennisetum clandestinum) en el altiplano de Pasto*. (Tesis de pregrado). Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas, Ingeniería Agroforestal. Pasto, Colombia. 106 p.
- Alvarez DM. (2000). *Evaluación In vitro de leguminosas tropicales como fuente de proteína para rumiantes*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Colombia. Palmira Valle del Cauca, Colombia. 120 p.
- Apráez JE, Delgado JM, Narváez JP. (2012). *Composición nutricional, degradación in vitro y potencial de producción de gas, de herbáceas, arbóreas y arbustivas encontradas en el trópico alto de Nariño*. Recuperado de: <http://www.lrrd.org/lrrd24/3/apra24044.htm>
- Apráez E, Moncayo OA. (2000). *Caracterización agronómica y bromatológica de una pradera de kikuyo (Pennisetum clandestinum Hoechst) sometida a rehabilitación mediante labranza y fertilización orgánica y/o mineral*. Recuperado de: <http://www.virtualcentre.org/es/enl/keynote14.htm>
- Barahona R, Sánchez MS, Murgueitio E, Chará J. (2003). *Contribución de la Leucaena leucocephala Lam (de Wit) a la oferta y digestibilidad de nutrientes y las emisiones de metano entérico en bovinos pastoreando en sistemas silvopastoriles intensivos*. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/266795423_Evidence_of_the_contribution_of_intensive_silvopastoral_systems_to_improve_productivity_and_reduce_GHG_emissions_in_cattle_farming
- Bastidas Zambrano LE, Guerrero Herrera LE. (2011). *Evaluación de diferentes niveles de harina de dalia (Dahlia imperialis ortgies) en cubos multinutricionales como complemento del pasto kikuyo (Pennisetum clandestinum) en la alimentación de cuyes (Cavia porcellus), en las fases de levante y engorde*. (Tesis de pregrado). Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Zootecnia. Pasto, Colombia. 105 p.
- Beauchemin KA, Kreuzer M, O'mara F. and McAllister TA. (2008). *Nutritional management for enteric methane abatement*. Recuperado de:

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

Benaouda M, González Ronquillo M, Molina LT, Castelán Ortega OA. (2017). *Estado de la investigación sobre emisiones de metano entérico y estrategias de mitigación en América Latina*. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263152088015>

Blaxter KL. (1964). *Metabolismo Energético de los Rumiantes*. Recuperado de: https://books.google.com.co/books?id=xBsOAQAIAAJ&pg=PA89&lpg=PA89&dq=Metabolismo+Energ%C3%A9tico+de+los+Rumiantes.+Ed.+Acribia&source=bl&ots=-Ncd_wwuWx&sig=wPNGLTdOfv7FTSTXWlgY26Qad0Y&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi9g4aCmo3WAhUC0iYKHfZuBYkQ6AEIODAF#v=onepage&q=Metabolismo%20Energ%C3%A9tico%20de%20los%20Rumiantes.%20Ed.%20Acribia&f=false

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*. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/271635328_Manipulation_of_rumen_fermentation_and_methane_production_with_plant_secondary_metabolites

Bonilla Cárdenas JA, y Lemus Flores C. (2012). *Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático*: Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242012000200006&lng=es&tlng=pt.

Broudiscou LP, Lassalas B. (2000). *Effects of Lavandula officinalis and Equisetum arvense dry extracts and isoquercitrin on the fermentation of diets varying in forage contents by rumen microorganisms in batch culture*. Recuperado de: <https://rnd.edpsciences.org/articles/rnd/abs/2000/05/r0502/r0502.html>

Cardona Iglesias JL, Mahecha Ledesma L, Angulo Arizala J. (2016). *Arbustivas forrajeras y ácidos grasos: estrategias para disminuir la producción de metano entérico en bovinos*. Recuperado de: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/article/view/21466>

Cardona Iglesias JL, Mahecha Ledesma L, Angulo Arizala J. (2017). *Efecto sobre la fermentación in vitro de mezclas de Tithonia diversifolia, Cenchrus clandestinum y grasas poliinsaturadas*. Recuperado de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5970838>

- Carmona JC, Bolivar D, Giraldo LA. (2005). *El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo*. En: Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. Vol. 18:1, p 49 – 63.
- Carulla JE. (1994). *Forage intake and N utilization by sheep as affected by condensed tannins*. Recuperado de: <http://digitalcommons.unl.edu/dissertations/AAI9430160/>
- Church DC, (1983). *El rumiante. Fisiología digestiva y nutrición*. Recuperado de: https://books.google.com.co/books/about/El_rumiante.html?id=DcEiAAAACAAJ&redir_esc=y
- Cuervo Jiménez A, Narváez Solarte W, y Hahn von Hessberg C. (2013). *Characteristics of Gliricidia Sepium (Jacq.) As Fodder Resource*. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-30682013000100003
- De la Rosa CL. (2012). *Población microbiana y producción de gases de efecto invernadero (GEI) de caulote (Guazuma ulmifolia lam) en un sistema in vitro de fermentación ruminal*. (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma de Chiapas, Facultad de Ciencias Agrícolas. Huehuetán, Chiapas. México. 120 p.
- De Ramus HA, Clement TC, Giampola DD, Dickison PC. (2003). *Methane emissions of beef cattle on forages: efficiency of grazing management systems*. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12549566>
- Delgado D, Galindo J, Cairo J, Orta Ibett, Domínguez M, Dorta Natacha. (2013). *Suplementación con follaje de L. leucocephala. Su efecto en la digestibilidad aparente de nutrientes y producción de metano en ovinos*. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/pdf/1930/193029230008.pdf>
- Delgado D, González R, Galindo J, Cairo J, Almeida M. (2007). *Potencialidad de Trichantera gigantea y Morus alba para reducir la producción ruminal de metano In vitro*. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/html/1930/193017712007/>
- Delgado, J.M., Narváez, J.P. (2011). *Caracterización de recursos forrajeros herbáceos, arbóreos y arbustivos de uso convencional y alternativo en el trópico alto del departamento de Nariño, mediante el uso de la técnica In vitro de producción de gases*. (Tesis de pregrado). Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Zootecnia. Pasto, Colombia. 184 p.
- Diaz Crispin GS. (2014). *Producción In Vitro De Metano (Ch4) en dietas compuestas de Colosuana (Bothriochloa Pertusa), Angleton (Dichantium Aristatum), Frijol Mungo (Vigna Radiata), Ensilaje De Maíz (Zea Mays) Y Concentrado Comercial*.

- (Tesis de pregrado). Universidad Del Tolima, Facultad De Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ibagué – Colombia. 90 p.
- FAO. (2006). *Livestock's long shadow: environmental issues and options*. Food & Agriculture Org. Recuperado de: https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=1B9LQQkm_qMC&oi=fnd&pg=PP18&dq=FAO+%22Livestock+Long+Shadow%22&ots=LOUZhV7PrM&sig=CPcl2z0VMTaTQNC4rCD61ZOZuQc#v=onepage&q=FAO%20%22Livestock%20Long%20Shadow%22&f=false
- Fariani A, Warly L, Matsui T, Fujihara T, Harumoto T. (1995). *Rumen degradability of Italian ryegrass (Lolium multiflorum, L) harvested at three different growth stages in sheep*. Recuperado de: <https://www.ajas.info/journal/view.php?number=18857>
- Federación española para el desarrollo de la nutrición animal - FEDNA. (2008). *Contribución de los rumiantes a las emisiones de gases con efecto invernadero*. Recuperado de: http://www.fundacionfedna.org/publicaciones_2008
- Flechas H, Aragón C, Morales N, Jiménez J. (2009). *Investigación y desarrollo de tres productos del jaboncillo (Sapindus saponaria l.) como base para su industrialización*. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/cofo/v12n1/v12n1a12.pdf>
- Fundación CIPAV. (2003). *Efecto del pago por servicios ambientales en la adopción de sistemas silvopastoriles en paisajes ganaderos de la cuenca media del río La Vieja, Colombia*. Recuperado de: http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/7733/Efecto_del_pago_por_servicios_ambientales.pdf?sequence=2
- Galindo J, González N, Marrero Y, Sosa A, Ruiz T, Febles G, Torres V, Aldana AI, Achang G, Moreira O, Sarduy L, Noda AC. (2014). *Efecto del follaje de plantas tropicales en el control de la producción de metano y la población de protozoos ruminales in vitro*. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193033033009>
- Galindo J, González N, Scull I, Marrero Y, Sosa A, Aldana A, Moreira O, Delgado D, Ruiz T, Febles G, Torres V, La O O, Sarduy L, Noda A, Achang O. (2012). *Efecto de Samanea saman (Jacq.) Merr., Albizia lebbeck (L.) Benth y Tithonia diversifolia (Hemsl.) Gray (material vegetal 23) en la población de metanógenos y en la ecología microbiana ruminal*. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/pdf/1930/193025294008.pdf>
- Galindo J, González N, Sosa A, Ruiz T, Torres V, Aldana AI, Díaz H, Moreira O, Sarduy L, Noda AC. (2011). *Efecto de Tithonia diversifolia (Hemsl.) Gray (Botón de oro)*

- en la población de protozoos y metanógenos ruminales en condiciones in vitro.*
Recuperado de: <http://www.redalyc.org/pdf/1930/193017615009.pdf>
- García AD, Kalscheur KF, Hippen AR, Schingoethe DJ. (2011). *Replacement of alfalfa haylage with ensiled wet distillers grains and beet pulp in lactating dairy cows diets.* Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/228467283_Storage_of_wet_distillers_grains
- García AD, Kalscheur KF. (2007). *Storage of Wet Distillers Grains.* Recuperado de: http://articles.extension.org/pages/25741/storage-of-wet-distillers-grains#Author_Information
- García Bonilla DV. (2011). *Evaluación productiva y de calidad forrajera de 12 colectas de Lotus corniculatus L. y su posible utilización en regiones templadas del estado de Puebla.* Recuperado de <http://www.biblio.colpos.mx:8080/jspui/handle/10521/622>
- Getachew G, Blümmel M, Makkar HPS, Becker K. (1998). *In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds.* Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840197001892>
- Giraldo Parra, P.A. (2013). *Efecto de varios aditivos y suplementos nutricionales en las emisiones de metano y los parámetros de la fermentación ruminal in vitro.* (Tesis de posgrado). Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Producción Animal. Medellín, Colombia. 152 p.
- Global Methane Budget. (2016). *Balance mundial del metano.* Recuperado de: <http://www.globalcarbonproject.org/methanebudget/>
- Gómez ME, Rodríguez L, Murgueitio E, Ríos CI, Rosales Méndez M, Molina CH, Molina E, Molina JP. (2002). *Árboles y Arbustos Forrajeros Utilizados en Alimentación Animal como Fuente Proteica.* Recuperado de: <https://www.ces.ncsu.edu/wp-content/uploads/2017/07/Arboles-y-Arbustos-Forrajeros-Utilizados-en-Alimentacio%CC%81n-Animal-como-Fuente-Protei%CC%81ca.pdf? fwd=no>
- González R, Delgado D, Cairo J. (2007). *Efecto de la inclusión de Sapindus saponaria en la producción de gas y metano en la fermentación in vitro de Pennisetum purpureum cv Cuba CT-115.* Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193017666007>
- Hacala. (2006). *Les ruminants et le rechauffement climatique.* Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-i3437f.pdf>

- Hagen Nicolás DE. (2012). *Efecto de la fertilización, en Promoción de Rye Grass (Lolium multiflorum)*. (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Católica Argentina, Facultad de Ciencias Agrarias, Ingeniería en Producción Agropecuaria. Argentina. 89 p.
- Hegarty RS. (1999). *Reducing rumen methane emissions through elimination of rumen protozoa*. Recuperado de: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302935576>
- Hill J, Nelson E, Tilman D, Polasky S, Tiffany D. (2006). *Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol bio-fuels*. Recuperado de: <http://www.pnas.org/content/103/30/11206.abstract>
- Hristov A Oh J, Lee C, Meinen R, Montes F, Ott T, Firkins J, Rotz Al, Dell C, Adesogan A, Yang W, Tricarico J, Kebreab E, Waghorn G, Dijkstra J, Oosting Simon. (2013). *Mitigación de las emisiones de gases de efecto invernadero en la producción ganadera*. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-i3288s.pdf>
- Instituto Científico de Investigación Agronómica - INRA. (1981). *Alimentación de los rumiantes*. Recuperado de: http://avalon.cuautitlan2.unam.mx/vaquillas/tablas_de_alimentacion/INRA2.pdf
- Johnson KA, Johnson DE. (1995). *Methane Emissions from Cattle*. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8567486>
- Kajikawa H, Hai J, Terada F, Suga T. (2003). *Operation and characteristics of newly improved and marketable artificial rumen (Rusitec)*. Recuperado de: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=JP2003005557>
- Kellems RO, y Church DC. (2002). *Livestock feeds and feeding*. Recuperado de: https://books.google.com.co/books/about/Livestock_Feeds_and_Feeding.html?id=4gEqAQAAAMAJ&redir_esc=y
- Kinsman R, Sauer FD, Jackson HA, Wolynetz, MS. (1995). *Methane and carbon dioxide emissions from cows in full lactation monitored over a six-month period*. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8675759>
- Lagler, JC. (2003). *Lotus: un género que no acaba en dos especies*. Recuperado de: <http://www.agro.unlp.edu.ar/revista/index.php/revagro/article/view/394>
- Lezcano Yohanka S, Mildrey Sánchez, LM, Ojeda FO, Yuseika Fontes D. (2012). *Caracterización cualitativa del contenido de metabolitos secundarios en la fracción comestible de Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. Gray*. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942012000300004

- Morgan DE, Graham NM, Minson DJ, Searle TW. (1988). *Energy and protein values of four forages, including a comparison between tropical and temperate species*. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/248890355_Energy_and_protein_values_of_four_forages_including_comparison_between_tropical_and_temperate_species
- Mc Caughey W, Wittenberg K, Corrigan D. (1997). *Methane production by steers on pasture*. Recuperado de: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.4141/A96-137#.Wa4w6sjjIU>
- McLeod MN. (1974). *Plant tannins - Their role in forage quality*. Recuperado de: <http://www.internationalgrasslands.org/files/igc/publications/1997/1-08-025.pdf>
- Meale SJ, Chaves AV, Baah J, McAllister TA. (2012). *Methane Production of Different Forages in In vitro Ruminal Fermentation*. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4092917/>
- Methol M. (2005). *Emisión de metano en sistemas pastoriles de producción ganadera*. Recuperado de: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/4922/1/METHOL-M.-2005.-Emision-de-metano.pdf>
- Min BR, Barry TN, Attwood GT, McNabb WC. (2003). *The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages*: Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840103000415>
- Miñon D, Sevilla H, Montes L, y Fernández ON. (1990). *Lotus tenuis: leguminosa forrajera para la Pampa Deprimida*. Recuperado de: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas%20artificiales/104-lotus.pdf
- Moe PW, Tyrrell HF. (1979). *Methane production in dairy cows*. Recuperado de: [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(79\)83465-7/abstract](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(79)83465-7/abstract)
- Molina Botero IC, Cantet JM, Montoya S, Correa Londoño GA, y Barahona Rosales R. (2013). *Producción de metano in vitro de dos gramíneas tropicales solas y mezcladas con Leucaena leucocephala o Gliricidia sepium*. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1900-96072013000200002&lng=en&tlng=es.
- Molina Botero IC, Cantet JM, Montoya S, Correa Londoño GA, y Barahona Rosales R. (2013). *Producción de metano in vitro de dos gramíneas tropicales solas y mezcladas con Leucaena leucocephala o Gliricidia sepium*. CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, 8(2), 15-31. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1900-96072013000200002&lng=en&tlng=es.

- Monsivais Morales KL. (2013). *Crecimiento y productividad estacional de Festuca arundinacea Schreber, Festulolium sp., y Lolium multiflorum lam., en una región semiárida*. (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Agronomía y Veterinaria. Ejido Palma de la Cruz, Soledad de Graciano Sánchez. 130 p.
- Moreno López JC. (2005). *Evaluación de la producción de forraje de Moringa oleífera (Lam), Cnidioscolus aconitifolium (Mill) L.M. Johnst y Leucaena leucocephala (Lam) de wit, para banco proteico en Pacora, San Francisco Libre, Managua*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria, Facultad de Recursos Naturales y del Ambiente Managua – Nicaragua. 89 p.
- Moss AR, Jouany JP, Newbold J. (2000). *Methane production by ruminants: its contribution to global warming*. Recuperado de: <https://animres.edpsciences.org/articles/animres/abs/2000/03/z0305/z0305.html>
- Muñoz Burbano HA, Noguera Ordóñez MA. (2003). *Valoración de las harinas de hoja de yuca (Manihot esculenta), morera (Morus alba) y botón de oro (Tithonia diversifolia) como reemplazo de la harina de alfalfa (Medicago sativa) en el levante y engorde de conejos (Oryctolagus cuniculus)*. (Tesis de pregrado). Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Zootecnia. Pasto, Colombia. 130 p.
- NRC. (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. National Academy Press. Recuperado de: <https://www.nap.edu/catalog/9825/nutrient-requirements-of-dairy-cattle-seventh-revised-edition-2001>
- Ortiz DM, Posada SL, Noguera RR. (2014). *Efecto de metabolitos secundarios de las plantas sobre la emisión entérica de metano en rumiantes*. Recuperado de: <http://www.lrrd.org/lrrd26/11/orti26211.html>
- Padilla Portilla ME. (2013). *Evaluación de la producción cuyícola bajo arreglos silvopastoriles con botón de oro (Tithonia diversifolia), acacia de la pradera (Senegalia angustissima), reventador (Clibadium sp), guatemala (Tripsacum andersonni) e imperial (Axonopus scoparius), en clima medio del Departamento de Nariño*. (Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias). Universidad de Nariño. Pasto – Colombia. 148 p.
- Patra A, Saxena J. (2010). *A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen*. Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942210001858>
- Pérez Noriega HR. (2010). *Evaluación de la hoja del árbol de caulote (Guazuma ulmifolia), como alimento para humanos*. (Tesis de Maestría en Alimentación y

Nutrición). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala. 134 p.

- Petit Aldana J, Casanova Lugo F, Solorio Sánchez F. (2010). *Rendimiento de forraje de Leucaena leucocephala, Guazuma ulmifolia y Moringa oleifera asociadas y en monocultivo en un banco de forraje*. Recuperado de: http://www.academia.edu/901078/Rendimiento_de_forraje_de_Leucaena_leucocephala_Guazuma_ulmifolia_y_Moringa_oleifera_asociadas_y_en_monocultivo_en_un_banco_de_forraje
- Polín Raygoza LA, Muro Reyes A, Díaz García LH. (2014). *Aceites esenciales modificadores de perfiles de fermentación ruminal y mitigación de metano en rumiantes*. Recuperado de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242014000100003
- Posada Ochoa SL, Ramírez Agudelo JF, Rosero Noguera R. (2014). *Producción de metano y digestibilidad de mezclas kikuyo (Pennisetum clandestinum) - papa (Solanum tuberosum)*. Recuperado de: <http://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/article/view/14214>.
- Preston TR y Leng RA. (1989). *Ajustando los sistemas de producción pecuaria a los recursos disponibles: aspectos básicos y aplicados del nuevo enfoque sobre la nutrición de rumiantes en el trópico*. Recuperado de: http://bibliotecas.esPOCH.edu.ec/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=15996&shelfbrowse_itemnumber=25335
- Primavesi O, Shiraishi RT, Dos Santos M, Aparecida M, Teresinha T, Franklin P. (2004). *Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras*. Recuperado de: <http://www.scielo.br/pdf/pab/v39n3/a11v39n3>
- Ramin M, Huhtanen P. (2013). *Development of equations for predicting methane emissions from ruminants*. Recuperado de: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201500101450>
- Ramírez JF, Posada Ochoa S, Noguera R. (2014). *Metanogénesis ruminal y estrategias para su mitigación*. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1900-96072014000200014&lng=en&nrm=iso. ISSN 1900-9607.
- Ramírez, JF, Posada S, and Noguera, R. (2015). *Efecto de la edad del pasto kikuyo (Pennisetum clandestinum) y la relación forraje: concentrado sobre la metanogénesis*. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69341382007>

- Rivera JE, Molina IC, Donney`s G, Villegas G, Chará J y Barahona R. (2015). *Dinámica de fermentación y producción de metano en dietas de sistemas silvopastoriles intensivos con L. leucocephala y sistemas convencionales orientados a la producción de leche*. Recuperado de: <http://www.lrrd.org/lrrd27/4/rive27076.html>
- Rojas Cristancho LR, Pérez Moreno, M. (2010). *Evaluación del efecto de las saponinas presentes en el bagazo del fique sobre la producción de metano*. (Tesis de pregrado) Universidad Industrial De Santander, Facultad de Ingenierías Físicoquímicas, Escuela de Ingeniería Química. Bucaramanga. Colombia. 56 p.
- Ruiz Cervantes J. (1996). *Evaluación del establecimiento de bancos de proteína de Leucaena Leucocephala en el Municipio de Comala, Comila, México*. (Tesis de Maestría en Ciencias). Universidad de Colima. Colima. México. 65 p.
- Russell JB. (1998). *The importance of pH in the regulation of ruminal acetate and propionate ratio and methane production in vitro*. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9891267>
- Sánchez Buitrago JA, Silva Herrera LJ. (2008). *Estudio silvicultural de la especie sapindus saponaria l. (jaboncillo) como base para su aprovechamiento silvoindustrial*. Recuperado de: <http://revistas.udistrital.edu.co/ojs/index.php/colfor/article/view/3020>.
- Santacoloma LE. (2011). *Las dietas en las emisiones de metano durante el proceso de rumia en sistemas de producción bovina*. Recuperado de: <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/913>
- Sosa A, Galindo J, Bocourt R. (2007). *Metanogénesis ruminal: aspectos generales y manipulación para su control*. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193017658001>
- Stewart CS, Flint HJ, Bryant MP. (1997). *The rumen bacteria*. Recuperado de: <https://link.springer.com/book/10.1007%2F978-94-009-1453-7>
- Thagaard C. (2007). *The abundance and diversity of methanogens and their association with ciliates*. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4286163/>
- Tiemann TT, Lascano CE, Wettstein HR, Mayer AC, Kreuzer M, Hess HD. (2008). *Effect of the tropical tannin-rich shrub legumes Calliandra calothyrsus and Flemingia macrophylla on methane emission and nitrogen and energy balance in growing lambs*. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22443605>
- Unidad de Planificación Rural Agropecuaria – UPR. (2016). *Rendición de cuentas 2016. Información oportuna para el ciudadano*. Recuperado de:

<http://www.upra.gov.co/documents/10184/23342/Informe+final+rendicuentas+2016.pdf/dffc09ae-a305-4b9d-a8af-55db6cf5b889>

- Van Kessel JS, Russell JB. (1996). *The effect of pH on ruminal methanogenesis*. Recuperado de: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1574-6941.1996.tb00319.x/full>
- Van Soest PJ. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Recuperado de: https://books.google.com.co/books/about/Nutritional_Ecology_of_the_Ruminant.html?id=qjNHnQEACAAJ&redir_esc=y
- Vargas J, Cárdenas E, Pabón M, Carulla J. (2012). *Emisión de metano entérico en rumiantes en pastoreo*. Recuperado de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242012000200006
- Vargas J, Pabón M, y Carulla J. (2013). *Producción de metano in vitro en mezcla de gramíneas-leguminosas del trópico alto Colombiano*. Recuperado de: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004922014003300001&lng=es&tlng=es.
- Vargas Martínez JJ. (2013). *Producción de metano In vitro e In vivo de gramíneas y leguminosas presentes en sistemas de producción bovina en trópico alto colombiano*. (Tesis de Maestría en Producción Animal). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Departamento Producción Animal. Bogotá, Colombia. 137 p.
- Vélez OM, Campos R y Sánchez H. (2014) *Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal*. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/html/939/93935728004/>