

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

POTENCIAL FORRAJERO Y METANOGÉNICO *IN VITRO* EN DIFERENTES LEGUMINOSAS Y GRAMÍNEAS FORRAJERAS DE MICHOACÁN, MÉXICO.

Tesis

Que presenta
YVEET SIERRA AGUILAR

Para obtener el título de
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Asesor
**DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS,
JOSÉ HERRERA CAMACHO**

Co-Asesor
**MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCION ANIMAL TROPICAL,
KARLOS EDMUNDO OROZCO DURAN**

Morelia, Michoacán, Marzo del 2015



Marzo,
2015

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

POTENCIAL FORRAJERO Y METANOGENICO *IN VITRO* EN
DIFERENTES LEGUMINOSAS Y GRAMÍNEAS FORRAJERAS DE
MICHOACÁN, MÉXICO.

Tesis

Que presenta

YVEET SIERRA AGUILAR

Para obtener el título de

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Morelia, Michoacán. Marzo 2015





Aprobación de Impresión del Trabajo

Morelia, Michoacán, 20 de febrero de 2015

C. DR. JOSÉ LUIS SOLORIO RIVERA

Director de la FMVZ-UMSNH

PRESENTE.

Por este conducto hacemos de su conocimiento que la tesis titulada: "**POTENCIAL FORRAJERO Y METANOGÉNICO IN VITRO EN DIFERENTES LEGUMINOSAS Y GRAMÍNEAS FORRAJERAS DE MICHOACÁN, MÉXICO**", forma parte del proyecto de investigación "*Mitigación de la producción de metano in vitro e in vivo mediante el uso de metabolitos secundarios y ácidos grasos vegetales en ovinos, como alternativa en la reducción de gases de efecto invernadero*", aprobado por el Consejo de Investigación Científica de la UMSNH, como parte del Programa de Investigación 2013, desarrollada por el P. MVZ. YVEET SIERRA AGUILAR, dirigida por el asesor DR. JOSÉ HERRERA CAMACHO, fue **revisada y aprobada** por esta mesa sinodal, conforme a las normas de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

ATENTAMENTE

MC. ANTONIO GARCÍA VALLADARES
PRESIDENTE

MVZ. JOSÉ FARIAS MENDOZA
VOCAL

DR. JOSÉ HERRERA CAMACHO
VOCAL (ASESOR)

*A mis señores padres Oliva y Fidel
el umbral de mi inspiración.*

*A mis hermanos Yenni y Nikh
la fuente de mis júbilos.*

Agradezco a Dios que es mi símbolo de esperanza y lucha.

A mis padres Fidel y Oliva por brindarme el estudio, apoyar mis locuras, calmar mis sollozos y ser el mejor ejemplo a seguir; a mis hermanos Yenni y Nikh que me complementan y por estar siempre a mi lado.

Gratifico los desafíos intelectuales por parte de mis asesores el Dr. Herrera y M.C. Karlos, además de hacerme participe de sus conocimientos.

También al personal de los laboratorios implicados, por su apoyo con las técnicas, el material y el equipo utilizado.

Gracias al CECTI y CONACYT por la beca otorgada para este proyecto; espero y sigan fomentando el dinamismo en la ciencia. Al igual que a la SEP por los programas de apoyo para titulación.

Gracias a mis buenos amigos del laboratorio IIAF que me ayudaron con los experimentos, sobre todo a Lucero, Angel y Marvin; a Lucio pues me hablo de la ciencia y pude ver lo enigmática y maravillosa que es y claro a los compañeros de parranda, que en esos días de estrés un buen brindis nunca cayó mal.

Gracias enserio a todas las personas que formaron parte de este proyecto.

“Que las palabras se manifiesten y que los pensamientos resplandezcan.”

ÍNDICE

Dedicatoria	iv
Agradecimientos.....	v
CURRICULUM VITAE.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS	14
ÍNDICE DE FIGURAS	15
RESUMEN	16
ABSTRACT	17
I. INTRODUCCION.....	18
II. ANTECEDENTES	20
2. LOS RUMIANTES	20
2.1. Generalidades.....	20
2.2. Estomago de los rumiantes.....	20
2.2.1. El rumen	21
2.2.2. El retículo.....	22
2.2.3. El omaso.....	22
2.2.4. El abomaso.....	22
2.3. Microorganismos Ruminales.....	23
2.3.1. Bacterias.....	23
2.3.2. Arqueas	24
2.3.3. Protozoarios.....	25
2.3.4. Hongos	26
3. COMPONENTES DE LA DIETA DE LOS RUMIANTES	27
3.1. Gramíneas	27
3.2. Leguminosas.....	29
3.2.1. Los taninos	30
3.2.2. Las saponinas.....	31
4. FERMENTACION RUMINAL DE LOS COMPONENTES DE LA DIETA.....	32
4.1. Carbohidratos.....	32
4.2. Lípidos	34

4.3. Proteínas.....	35
5. PRODUCTOS DE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y LA METANOGENESIS ENTÉRICA	36
5.1. Emisión de CH ₄ entérico en rumiantes y su relación con los forrajes	38
5.1.1. Potencial metanogénico entre plantas C3 y C4	38
5.1.2. Potencial metanogénico de las leguminosas en comparación con las gramíneas.....	40
6. GANADERÍA, IMPACTO AMBIENTAL Y CAMBIO CLIMÁTICO	41
6.1. Generalidades.....	41
6.2. El metano y el calentamiento global.....	43
6.3. Consecuencias del calentamiento global	45
6.4. México y su participación en el régimen climático.....	48
7. TECNICAS PARA ESTIMAR LA DIGESTIBILIDAD DE LOS FORRAJES	50
7.1. Método <i>in vivo</i>	50
7.1.1. Técnica de la bolsa de nylon (<i>in sacco</i>)	51
7.2. Métodos <i>in vitro</i>	51
7.2.1. La técnica de Tilley y Terry (1963).....	51
7.2.2. Producción de gas <i>in vitro</i>	52
8. TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN DEL CH ₄ EN RUMIANTES	53
8.1. Espectroscopia de Infrarrojo Cercano (NIR)	53
8.2. Espectroscopia de masa	53
8.3. Cromatografía de gases.....	54
8.4. Calorimetría.....	55
8.5. Gases trazadores	55
8.6. La colecta directa	55
III. HIPOTESIS	56
IV. OBJETIVO.....	56
V. MATERIAL Y METODOS	56
1. Colecta de los forrajes.....	56
2. Procesamiento de los forrajes	57
3. Técnica de producción de gas <i>in vitro</i>	58

3.1. La saliva artificial.....	59
3.2. Colecta del líquido ruminal.....	60
4. Medición de metano	62
5. Digestibilidad de los forrajes.....	63
6. Variables y análisis estadístico.....	65
IV. RESULTADOS	66
A) Producción total de gas (cm ³).....	66
B) Proporción (%) de metano/cm ³	67
C) Digestibilidad <i>in vitro</i> de la Materia Seca.....	70
VII. DISCUSIÓN.....	72
A) Producción total de gas (cm ³).....	72
B) Proporción (%) de metano/cm ³	73
C) Digestibilidad <i>in vitro</i> de la Materia Seca.....	74
VIII. CONCLUSIONES.....	75
IX. SUGERENCIAS	75
X. BIBLIOGRAFIA.....	76
XI. GLOSARIO.....	89

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Procaríotes ruminantes y su participación en la fermentación de distintos tipos de sustratos.....	24
Tabla 2. Clasificación por grupo, tribu y especie de las gramíneas.....	28
Tabla 3. Principales características productivas y nutritivas de algunas gramíneas cultivadas en México.....	29
Tabla 4. Clasificación de los carbohidratos dentro de la dieta de los rumiantes.....	33
Tabla 5. Tipo de forraje y la producción de CH ₄ <i>in vivo</i> , expresado como L/kg en consumo de materia seca (MS).....	39
Tabla 6. Algunas fuentes de emisión de gases de efecto invernadero (GEI) en rumiantes	41
Tabla 7. Proporciones de emisión de metano por animales domésticos del año 1990 al 2002 en México.....	42
Tabla 8. Potencial de calentamiento global de gases de efecto invernadero.....	44
Tabla 9. Emisiones de GEI (kt*) de México respecto al resto de mundo de 2002 a. 2008.....	45
Tabla 10. Orden de los reactivos y cantidad para la preparación del medio de cultivo.....	61
Tabla 11. Orden, proporción y reactivos necesarios para la solución FDN.....	64
Tabla 12. Diferencias en la acumulación de producción de gas <i>in vitro</i> a las 96 h de gramíneas y leguminosas de clima templado y tropical en Michoacán, México.....	66
Tabla 13. Proporción relativa de CH ₄ producido <i>in vitro</i> por diferentes especies de gramíneas y leguminosas de clima templado y tropical en Michoacán, México....	68
Tabla 14. Porcentaje de la digestibilidad <i>in vitro</i> de materia seca (%DIVMS) en gramíneas y leguminosas de clima templado y tropical en Michoacán, México....	70
Tabla 15. Porcentaje de Fibra Neutro Detergente (%FDN) en gramíneas y leguminosas de clima templado y tropical en Michoacán, México	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución anatómica de las estructuras que conforman el estómago de la vaca	21
Figura 2. Metanogénesis según productos de la fermentación ruminal	36
Figura 3. Relación entre las emisiones totales de gases de efecto invernadero y la producción por vaca. Cada punto representa un país en la base de datos.....	38
Figura 4. Estimación global de emisiones de metano por animales de producción.	43
Figura 5. Emisiones de GEI mundiales por sub-sectores, 2010.	46
Figura 6. Distintos tamaños de partícula, el adecuado para la producción de gas <i>in vitro</i> es el del centro.....	58
Figura 7. Diagrama de montaje de técnica de producción de gas.....	59
Figura 8. Equipo de laboratorio para técnica de producción de gas.....	62
Figura 9. Embudos acoplados a matraces en un sistema de vacío por bomba eléctrica (proceso de filtrado).....	65
Figura 10. Producción de gas acumulado <i>in vitro</i> en cm ³ de los forrajes de la hora 1 a la 96.....	67
Figura 11. Proporción de gas acumulado y CH ₄ a las 96 h en diferentes especies de gramíneas y leguminosas de clima templado y tropical en Michoacán, México.....	69

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar el potencial forrajero y metanogénico *in vitro* de gramíneas y leguminosas forrajeras de clima tropical y templado en Michoacán. Del trópico se colectó la leguminosa guaje (*Leucaena leucocephala*) y las gramíneas: pasto Taiwán (*Pennisetum purpureum*), Tanzania (*Panicum maximum*), llanero (*Andropogon gayanus*) y estrella (*Cynodon plectostachyus*). En la región templada, las leguminosas: ebo (*Vicia sativa*), alfalfa (*Medicago sativa*) y guaje rojo (*L. esculenta*). Y las gramíneas: avena (*Avena sativa*), cebada (*Hordeum vulgare*), pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y estrella (*C. plectostachyus*). Los forrajes se sometieron al proceso de producción de gas *in vitro*, sustrayendo 2 ml de gas cada 12 h para el análisis de metano por cromatografía de gases. En los residuos sólidos de la producción de gas, se evaluó la digestibilidad de los forrajes. Las variables evaluadas fueron: producción de gas *in vitro*, producción de metano y porcentaje de digestibilidad *in vitro* de materia seca (%DIVMS). Los datos se analizaron por varianza con análisis de medias. Los pastos con mayor cantidad de metano fueron Tanzania (38.69%/ml) y cebada (30.73%/ml) ($P<0.005$). El mejor desempeño de gas acumulado y digestibilidad fue para la cebada y avena con 286.82 y 278.13 cm³ y 90.48 y 88.25 %DIVMS respectivamente ($P<0.005$). *L. esculenta* obtuvo el menor desempeño en producción total de gas (60.69 cm³) y metano (11.97%/ml) ($P<0.005$). En conclusión las especies de gramíneas mostraron el mayor desempeño en producción de gas y digestibilidad que las leguminosas. Tanto los forrajes templados como los tropicales tuvieron un potencial metanogénico similar.

Palabras Clave: clima templado, digestibilidad, forrajes, metano, trópico.

ABSTRACT

The objective of study was to evaluate the forage potential and methane production *in vitro* of forage grasses and legumes in tropical weather and temperate in Michoacan. In tropics the legume collected was guaje (*Leucaena leucocephala*) and the grasses: Taiwan (*Pennisetum purpureum*), Tanzania (*Panicum maximum*), gamba (*Andropogon gayanus*) and stargrass (*Cynodon plectostachyus*). In the temperate region, the legumes: ebo (*Vicia sativa*), alfalfa (*Medicago sativa*) and guaje rojo (*L. esculenta*). As well grasses: oat (*Avena sativa*), barley (*Hordeum vulgare*), kikuyo grass (*Pennisetum clandestinum*) and stargrass (*C. plectostachyus*). The fodder was underwent to the gas production process *in vitro*, wherein 2 ml of gas was subtracting per 12 h intervals for analysing methane in gas chromatography. In solid waste production of gas, the digestibility of forages were evaluated. The variables were evaluated: production of gas *in vitro*, methane production *in vitro* and percent dry matter *in vitro* digestibility (%DMIVD). The data were analyzed by variance and means. The pastures that produced the largest number of methane per ml were Tanzania (38.69%/ml) and barley (30.73%/ml) ($P<0.005$). The best performance of gas accumulated and for digestibility was to barley and oats with 286.82 and 278.13 cm³ and 90.48 and 88.25 %DMIVD respectively ($P<0.005$). *L. esculenta* was the forage with lower both total production of gas (60.69 cm³) as in methane production (11.97 %/ml) ($P<0.005$). In conclusion the species of grasses showed the best gas production performance and digestibility than legumes. Both Temperate and Tropical forages had similar *in vitro* methanogenic potential.

Keywords: temperate, digestibility, feed, methane, tropics.

I. INTRODUCCION

En México el sector agropecuario contribuye a la economía nacional aportando un 8.3% del PIB (INEGI, 2014), siendo un motor de desarrollo para la industria, proporcionando alimento, materias primas, fuentes de empleo y divisas, entre otros bienes. La agroindustria ganadera se desarrolla en aproximadamente 101 millones de hectáreas, casi la mitad del territorio nacional. Para el 2013 el inventario nacional de cabezas de rumiantes (bovinos, ovinos y caprinos) fue de más de 49 millones (SIAP, 2013); estos animales tienen la capacidad de producir carne y leche utilizando como sustratos plantas y forrajes formados de carbohidratos fibrosos de poco valor nutricional para la población humana (SEMARNAT, 2008).

En la región centro-occidente del país, donde el estado de Michoacán figura como uno de los 13 principales productores de ganado, los sistemas de producción animal basan sus estrategias de alimentación en el pastoreo, cultivo y corte de gramíneas nativas o introducidas, que constituyen la dieta básica en la alimentación de rumiantes, siendo el alimento de menor costo (FAO, 2006; INEGI, 2007). Otro sustrato disponible, son las leguminosas forrajeras, que se caracterizan por un alto contenido proteico (variando entre especies de 17-40%), mayor digestibilidad y composición mineral que otros forrajes. Actualmente se les relaciona en sistemas agrosilvopastoriles, donde se asocian con micorrizas radiculares, siendo capaces de fijar nitrógeno en suelos de cultivo y praderas (Faría, 2006).

Los carbohidratos estructurales de los forrajes como la celulosa, hemicelulosa y xilanos, pueden ser digeridos por el animal debido a la simbiosis establecida con microorganismos presentes en el tracto gastro-intestinal. El rumen es el segmento digestivo mayormente poblado por bacterias, protozoarios y hongos encargados de la fermentación del forraje, dando lugar a productos y metabolitos intermedios que juegan un rol alimenticio de manera directa para los rumiantes. Al respecto, los de mayor importancia en nutrición ruminal son los ácidos grasos volátiles, ácidos orgánicos, aminoácidos libres y formas de proteína y grasa de origen microbial. Al igual, actualmente han ido tomando relevancia los metabolitos que no son aprovechados por el animal, y que son liberados al medio ambiente, como el bióxido

de carbono (CO_2), metano (CH_4) y óxido nitroso (N_2O) (De Klein *et al.*, 2008; Cottle *et al.*, 2011).

La ganadería de rumiantes es una fuente de gases contaminantes para el medio ambiente; en este sentido la generación de CH_4 es la más importante, aportando entre el 20 y 28% del CH_4 producido anualmente a nivel mundial. Las cantidades en la generación de dicho gas, están moduladas por factores como el tipo y cantidad de flora ruminal, composición y digestibilidad de la dieta, consumo de materia seca, factores genéticos, entre otros (Aguado *et al.*, 2004; Beauchemin *et al.*, 2008). El CH_4 pertenece al grupo de los gases de efecto invernadero (GEI), tiene un potencial de calentamiento global 23 veces mayor que el CO_2 (Steinfeld *et al.*, 2009), pudiendo permanecer en la atmósfera por 9 a 15 años (Johnson y Johnson, 1995; Demeyer y Fievez, 2000). No obstante, los GEI son mecanismos naturales que han permitido mantener una temperatura cálida en el planeta (15°C en promedio), y que desde la revolución industrial se ha evidenciado un aumento en la concentración del conjunto de GEI en la atmósfera. La ganadería no ha quedado exenta de contribuir en este aumento de emisiones, lo cual se asocia a efectos negativos en el medio ambiente como aumento en la temperatura de la tierra y del océano, el descongelamiento de glaciares, aumento en el nivel del mar y en la incidencia de fenómenos naturales extremos (sequias e inundaciones) (ONU, 1998; IPCC, 2013).

En México, la estimación de la generación de los gases de efecto invernadero (GEI) está basada en modelos de simulación, que no consideran algunos aspectos particulares de fuentes metanogénicas como la ganadería. Por lo que existe la necesidad de estudios que aporten valores reales en cuanto a la producción de metano entérico en rumiantes. Por otra parte la mitigación de metano entérico en el ganado es un área de investigación creciente en la ciencia animal, bajo dicho escenario, el conocimiento del potencial forrajero y de impacto ambiental de los principales pastos de clima templado y tropical puede constituir un punto de partida en el área de estudio.

II. ANTECEDENTES

2. LOS RUMIANTES

2.1. Generalidades

Los rumiantes son mamíferos ungulados del orden *Ariodactyla* y suborden *Ruminantia*, que se alimentan de vegetales, carecen de dientes incisivos en la mandíbula superior y tienen el estómago compuesto de cuatro cavidades. Se encuentran distribuidos en 6 familias *Antilocapridae*, *Bovidae*, *Cervidae*, *Giraffidae*, *Moschidae* y *Tragulidae* (Nowak, 1999), existiendo 75 millones de rumiantes silvestres y 3.6 miles de millones domesticados (Hackmann y Spain, 2010). Dentro de la familia *Bovidae* encontramos a las especies de bovinos, ovinos y caprinos que constituyen aproximadamente el 95 % de la población de rumiantes domésticos en el mundo (FAIP, 2003).

Los rumiantes se caracterizan por su sistema digestivo, el cual integra una gran población microbiana (bacterias, protozoarios, hongos, entre otros), que se relaciona simbóticamente con el hospedero y que en su conjunto forman una cámara de fermentación en los pre-estómagos del animal para poder asimilar los sustratos que componen a la planta, por ejemplo; monosacáridos, disacáridos o polisacáridos. Despues algunos productos de este proceso pasan por la actividad digestiva gástrica en el estómago glandular y en el intestino (Habel, 1982; Van Soest, 1994). Otra acción específica de este tipo de animales es la rumia, la cual es la regurgitación de la ingesta seguida de una remasticación, reensalivación y una nueva deglución. Esto logra disminuir el tamaño de partícula del alimento y aumenta la superficie para la fermentación microbiana. La rumia ocurre principalmente cuando el animal descansa y no come (Nava y Díaz, 2001; Church, *et al.*, 2003).

2.2. Estomago de los rumiantes

La capacidad de los rumiantes para aprovechar los carbohidratos fibrosos de la dieta, está sustentada en la función del rumen, el retículo y el omaso; estas tres estructuras, también llamadas pre-estómagos o proventrículos, anteceden al

abomaso o estómago glandular. Estos órganos se ubican en el lado izquierdo de la cavidad abdominal, ocupando casi 3/4 partes de esta y se extiende dentro de la mitad derecha (Figura 1); pudiendo contener en los adultos del 65 al 80% del alimento en digestión que se encuentre en todo el aparato digestivo (Hall, 2003; Koenig *et al.*, 2003).



Figura 1. Distribución anatómica de las estructuras que conforman el estómago de la vaca.

1) Esófago; 2^a) Rumen (saco dorsal); 2^b) Rumen (saco ciego dorsal); 2^c) Rumen (saco ciego ventral); 2^d) Rumen (saco ventral); 3) Retículo; 4) Omaso; 5) Abomaso; 6) Orificio retículo-omasal; 7) Cardias; 8) Pliegue rumen-retículo; 9) Pliegue retículo-omasal; 10) Intestino delgado; 11) Intestino grueso.

2.2.1. El rumen

El alimento consumido por los rumiantes es expuesto a la fermentación en el rumen, el primer y más grande compartimiento del estómago. El rumen y el retículo no están completamente separados y aunque tienen funciones diferentes, forman una cámara, un entorno complejo que mantiene un ambiente favorable, con una temperatura de 39 a 40°C, una osmolaridad de 300 osm y un pH de 6 a 7, lo que da lugar a la fermentación anaeróbica, sobrevivencia de los microorganismos, disposición del alimento en diversas etapas de la digestión, gases y fluido ruminal (Hobson, 1989; Koenig *et al.*, 2003). El sustrato ingerido, viene acompañado de grandes cantidades de saliva (en vacas adultas hasta 150 litros o más por día y en las ovejas 10 litros o más), que constituye una fuente de nitrógeno no proteico (NNP), como urea y mucoproteinas, P y Na, carbonatos y otras sales moduladoras del pH ruminal (Church *et al.*, 2003).

2.2.2. El retículo

Se ubica craneal al rumen y se le une mediante un pliegue. El retículo se conecta al omaso mediante el orificio retículo-omasal. El retículo mueve el alimento ingerido hacia el rumen o colecta el alimento que ha sido suficientemente fermentado para transportarlo hacia el omaso y lleva a cabo la regurgitación de dicho alimento durante la rumia. En su interior está cubierto exclusivamente con epitelio estratificado similar al que se observa en el esófago, el rumen y el omaso, pero cada uno posee una mucosa distinta altamente vascularizada que les facilita su función, principalmente el de la absorción de ciertas sustancias, como ácidos grasos de cadena corta (Habel, 1982; Church *et al.*, 2003).

2.2.3. El omaso

Se localiza al lado derecho del rumen; se le han postulado distintas funciones, entre ellas el hecho de que puede ayudar a reducir el tamaño de las partículas del alimento ingerido, y esto tiene efecto en el control del paso de los alimentos hacia las partes posteriores del aparato digestivo. También se lleva a cabo la absorción de ácidos grasos volátiles (AGV) que hayan logrado pasar a su interior. Otra función importante es el hecho de que separa el material sólido del contenido ruminal que capta. El ciclo de contracciones del omaso es necesario para el transporte de la ingesta, desde el rumen y retículo hasta el abomaso (Reid, 1970).

2.2.4. El abomaso

Tiene una función similar a la del estómago glandular de los no rumiantes y recuerda en parte a la del estómago simple. La secreción abomasal no es dependiente de los estímulos asociados con la alimentación. Es una fuente importante de enzimas proteolíticas (maltasa, isomaltasa, lactasa y sacarasa) y ácido clorhídrico. En conjunto con el intestino delgado, actúan sobre oligosacáridos o disacáridos (Habel, 1982; Church *et al.*, 2003). Los rumiantes tienen una capacidad limitada para ingerir almidón, ya que la producción de amilasa pancreática para la hidrolisis de mismo, glucógeno o dextrinas es baja. Tampoco se encuentra la sacarasa, pues la sacarosa que normalmente entra al estómago de estos animales se fermenta en el rumen. La

pepsina es relativamente inactiva excepto en animales lactando con un pH de 4 a 4.5 dentro de su estómago (Reid, 1970; Nocek y Russell, 1988).

2.3. Microorganismos Ruminales

Los microorganismos del rumen generalmente se adhieren a las partículas de alimento y forman biopelículas para degradar moléculas como polisacáridos, aprovechar proteínas y fuentes de nitrógeno no proteico (NNP) para convertirlos a proteína microbiana y poder sintetizar vitaminas hidrosolubles. Despues se lleva a cabo la acción enzimática sobre dichos sustratos, independientemente de la posible utilización de los productos resultantes. Estos eventos son limitados por la naturaleza de la pared celular vegetal, las condiciones del ambiente ruminal y por las características de la población microbiana implicada, ya que incluso en vacas con las mismas dietas existen diferencias en su microflora y tasa de fermentación. La fermentación microbiana de las partículas de alimento aporta el 70% de la energía metabólica en los rumiantes (Nocek y Russell, 1988; Bergman, 1990; Waghorn *et al.*, 2006).

El ecosistema microbiano del rumen está conformado por bacterias (1,010-1,011 células/ml, más de 50 géneros), protozoarios ciliados (104-106/ml, 25 géneros), hongos anaeróbicos (103-105 zoosporas/ml, 5 géneros) (Kamra, 2005), hongos, Archaeas (8 géneros metanogenos han sido identificados y cultivados. Aunque es probable que existan más, estimando de 360 a 1,000 especies), entre otros (Kong *et al.*, 2013; Poulsen *et al.*, 2013). Estos fueron clasificados por Czerkawsky (1986) en tres subpoblaciones de acuerdo a su interacción con las partículas de alimento: los microorganismos suspendidos en el líquido ruminal, los que se encuentran en las paredes del epitelio ruminal y los adheridos firmemente a las partículas de alimento.

2.3.1. Bacterias

Las bacterias son los microorganismos más abundantes en el rumen, desempeñan un papel dominante en todas las facetas de la fermentación ruminal, viven en un pH de 5.5 y 7.0, en ausencia de oxígeno, a una temperatura de 39-40° C y con la

presencia de una concentración moderada de productos de fermentación. Las principales especies bacterianas (Tabla 1) que participan en la fermentación ruminal de la fibra son *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Butyrivibrio* y *Prevotella spp* entre otros (Walker, 2010).

Tabla 1. Procariontas ruminantes y su participación en la fermentación de distintos tipos de sustrato (Church, 1988).

CELULOLÍTICOS	HEMICELULOLÍTICOS
<i>Bacteroides succinogenes</i>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	<i>Bacteroides ruminicola</i>
<i>Ruminococcus albus</i>	<i>Ruminococcus sp.</i>
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	
UTILIZADORES DE AZÚCAR	UTILIZADORES DE ÁCIDOS
<i>Treponema bryantii</i>	<i>Megasphaera elsdenii</i>
<i>Lactobacillus vitulinus</i>	<i>Selenomonas ruminantium</i>
<i>Lactobacillus ruminis</i>	
PECTINOLÍTICOS	UTILIZADORES DE LÍPIDOS
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	<i>Anaerovobrio lipolytica</i>
<i>Bacteroides ruminicola</i>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>
<i>Lachnospira multiparus</i>	<i>Treponema bryantii</i>
<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	<i>Eubacterium sp.</i>
<i>Treponema bryantii</i>	<i>Fusocillus sp.</i>
<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Micrococcus sp.</i>
AMILOLÍTICOS	PROTEOLÍTICOS
<i>Bacteroides amylophilus</i>	<i>Bacteroides amylophilus</i>
<i>Bacteroides ruminicola</i>	<i>Bacteroides ruminicola</i>
<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>
<i>Succinimonas amyloytica</i>	
PRODUCTORES DE AMONIACO	PRODUCTORES DE METANO
<i>Bacteroides ruminicola</i>	<i>Methanobrevibacter ruminantium</i>
<i>Selenomonas ruminantium</i>	<i>Methanobacterium formicicum</i>
<i>Megasphaera elsdenii</i>	<i>Methanomicrobium mobile</i>
UREOLÍTICOS	
<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	<i>Ruminococcus bromii</i>
<i>Bacteroides ruminicola</i>	<i>Butyrivibrio sp.</i>
<i>Selenomonas sp.</i>	<i>Treponema sp.</i>

2.3.2. Arqueas

Las arqueas son procariontes anaerobios que pertenecen al dominio Archea, el tercer dominio de vida junto con *Eucarya* y *Bacteria* (Woese *et al.*, 1990.) Este es el único grupo metabólico capaz de obtener energía de compuestos carbonados de

bajo peso molecular e hidrógeno con producciones estequiométricas de metano, comprende dos reinos: *Euryarchaeota* (metanogénicos, halófilos extremos y algunos hipertermófilos) y *Crenarchaeota* (originalmente sólo comprendía a los hipertermófilos pero ahora incluye una variedad de miembros no termofílicos) (Jarrell *et al.*, 1999). Los protozoarios del rumen también pueden aportar H₂ y CO₂ a la cadena trófica entre arqueas y bacterias celulolíticas y se ha demostrado la formación de biopelículas metanogénicas sobre la superficie de estos microorganismos, biopelículas que podrían estar relacionadas con la captura de H⁺, producto del metabolismo de los protozoarios (Stewart *et al.*, 1997). Algunas de las especies de arqueas metanogénicas ruminales son: la *Methanosarcina barkeri*, *M. smithii* (Lin y Miller, 1998), *M. arboriphilus*, *M. marisnigri* (Zellner *et al.*, 1987) y *M. ruminantium* (Wright *et al.*, 2007) en vacas. En ovejas la *M. gottschalkii* (Wright *et al.*, 2006), *M. ruminantium*, *M. thaueri*, *M. millerae* y *M. olleyae* (Rea *et al.*, 2007). Y en cabras la *Methanosarcina* (Mukhopadhyay *et al.*, 1995).

2.3.3. Protozoarios

Han sido identificadas unas 35 especies de protozoarios ciliados que viven en el rumen de animales en diferentes condiciones; existen también protozoarios flagelados, que se encuentran en menores cantidades en animales jóvenes. Las principales especies que participan en la fermentación ruminal de la fibra son todos los protozoos entodiniomorfos, excepto *Entodinium spp.* y la mayor actividad corresponde a *Eudiplodinium maggi*. Los protozoarios consumen y metabolizan azúcares solubles, hidrolizan bacterias para utilizarlas como sustrato logrando con esto limitar el crecimiento bacteriano. Un papel particularmente importante de los protozoarios, es su capacidad para frenar la digestión de los sustratos que se fermentan con rapidez, como el almidón y algunas proteínas. Esto es posible ya que los protozoarios engloban al almidón y a las proteínas, almacenándolos y protegiéndolos de la acción bacteriana (Czerkawsky, 1986; Walker, 2010).

2.3.4. Hongos

Los hongos en el rumen son de naturaleza anaerobia, la cantidad varía de 10^3 y 10^5 colonias/ml calculándose que más del 8% de la biomasa microbiana del rumen está constituida por éstos. Tienen la habilidad para colonizar extensamente la pared celular de las plantas y producir altas cantidades de enzimas (celulasa, hemicelulasas, xilanasa) para digerir carbohidratos estructurales e hidrolizar uniones glicosídicas, dando origen a diferentes sacáridos. A pesar de las ventajas que se han atribuido a los hongos como degradadores de la parte más resistente de la fibra; aún no se ha establecido un papel definitivo de ellos en el ecosistema ruminal (Tsuda *et al.*, 1991). Se han identificado los géneros *Neocallimastix*, *Piromonas* y *Sphaeromonas*. También existen hongos que parasitan protozoarios ciliados, llamados “zoosporos” identificando dos: *Sphaeromonas communis* y *Piromonas communis*. Estos últimos tienen una movilidad activa con el aparato flagelar como orientación (Coughlan, 1991).

Las levaduras y hongos aerobios que llegan a encontrarse en el rumen son considerados transitorios y no funcionales, entrando al rumen por el bolo alimenticio. Sin embargo se concluyó que *Aspergillus fumigatus*, *Mucur roucii* y *Sporormia minima*, están implicados como agentes causales de enfermedades en ovinos, pudiendo sobrevivir en el rumen a pesar de su naturaleza aerobia (Czernawsky, 1986).

3. COMPONENTES DE LA DIETA DE LOS RUMIANTES

En México, las gramíneas son el principal ingrediente en las dietas de los rumiantes en los trópicos; siendo el soporte en la alimentación en sistemas extensivos, donde al no invertir en concentrados, granos, alimentos balanceados o subproductos agrícolas, se consideran económicos, existiendo diferencias en relación costo-beneficio a comparación de sistemas intensivos (SAGARPA, 2007). Actualmente un gran número de estudios han mostrado que las gramíneas al asociarse con otros forrajes como las leguminosas arbustivas y arbóreas, logran mejorar la ganancia de peso y la producción de leche por los suplementos de proteína que estas últimas aportan (Patton *et al.*, 2006).

3.1. Gramíneas

La familia botánica *Gramineae* o *Poaceae* incluye aproximadamente 10,000 especies, donde se encuentran de 2 a 12 grupos o subfamilias (Tabla 2) como: los pastos festucoides (poaoides) de zonas templadas, los panicoides que son pastos tropicales y subtropicales y los chloridoides, pastos cultivables tropicales y de áreas cálidas de Norteamérica (Bogdan, 1997).

Las diferencias de los tipos de pastos radican en la adaptación de la anatomía y fisiología de las hojas a distintas condiciones climáticas, lo que se relaciona con las diferencias en el proceso y los productos de la fotosíntesis. Se pueden encontrar plantas de clima templado, conocidas como de tipo C3 (pastos festucoides), las cuales tienen un primer producto de la fotosíntesis de tres carbonos, conocido como ácido 3 fosfoglicérico. Por otra parte los forrajes de climas tropicales se denominan de tipo C4 (panicoides y chloridoides) siendo su primer producto de la fotosíntesis un compuesto de cuatro carbonos o ácido oxalacético (Badger y Price, 1994; Salisbury y Ross, 2000).

De las especies estudiadas hasta el momento aproximadamente el 89% son C3 y solo 1% son C4, el 10% restantes son CAM (plantas clasuláceas); adicionalmente se conocen unas cuantas especies que son intermedias C3-C4. Asimismo algunos

pastos C3, C4 y CAM pueden crecer independientemente de la zona y altitudes donde se encuentren habitualmente (Salisbury y Ross, 2000).

Tabla 2. Clasificación por grupo, tribu y especie de las gramíneas (Bogdan, 1997).

Grupo	Tribu	Especie
festucoes	Triticeae	<i>Agropyron</i>
	Festuceae	<i>Festuca</i>
		<i>Dactylis</i>
		<i>Lolium</i>
		<i>Poa</i>
	Bromeae	<i>Bromus</i>
	Aveneae	<i>Avena</i>
		<i>Arrhenatherum</i>
	Agrostideae	<i>Agrostis</i>
		<i>Alopecurus</i>
		<i>Phleum</i>
panicoide	Paniceae o Mellinidae	<i>Panicum</i>
		<i>Bracharia</i>
		<i>Digitaria</i>
		<i>Melinis</i>
		<i>Pennisetum</i>
		<i>Chenchrus</i>
	Andropogoneae	<i>Andropogon</i>
		<i>Hyparrhenia</i>
		<i>Sorghum</i>
		<i>Lasiurus</i>
Maideae		<i>Themeda</i>
		<i>Zea</i>
		<i>Euchlaena</i>
		<i>Tripsacum</i>
chloridoides	Chlorideae	<i>Chloris</i>
		<i>Cynodon</i>
	Eragrostaeae	<i>Eragrostis</i>
		<i>Dactyloctenium</i>
		<i>Eleusina</i>

El valor nutricional (composición química, estructural y digestibilidad) de los pastos cambia (Tabla 3), existiendo diferencias incluso dentro de la misma especie; influyendo la temperatura, el tipo de suelo, la intensidad de luz y el proceso de fotosíntesis (Bogdan, 1997).

Tabla 3. Principales características productivas y nutritivas de algunas gramíneas cultivadas en México (Juárez *et al.*, 2001; Juárez *et al.*, 2009).

Nombre común y científico	Tipo de fotosíntesis	Valor nutritivo (%MS)		Distribución	Potencial productivo	Ciclo vegetativo
		PC	FND			
Guinea (<i>Panicum maximum</i>) variedad Tanzania	C4	4.64	74.6		12 a 40 ton MS/hs/año	Perenne
Estrella de áfrica (<i>Cynodon lemuensis</i> , <i>C. plectostachyus</i>)	C4	2.67	71.9	Decrece hacia el sur desde 94% en San Luis Potosí a 60% en Tabasco		Perenne
Llanero (<i>Andropogon gayanus</i>)						Perenne
Elefante (<i>Pennisetum purpureum</i>)	C4	8-12	63.12-68.32		40 a 50 ton MS/ha/año	
Avena (<i>Avena sativa</i>)	C3	13.59	58-60	30% del país en regiones de climas sub-húmedo y templado húmedo a semi-árido y árido,	Muy buena producción invernal, máximo dos ciclos de cosecha	Anual
Cebada (<i>Hordeum vulgare</i>) Variedades Esmeralda y Cerro Prieto	C3	15.2	63.97	Guanajuato (30.8%), Hidalgo (30.4%), Tlaxcala (11.3%) y Edo. México (7.9%)	Producción invernal, un solo ciclo de cosecha,	Anual

3.2. Leguminosas

Las leguminosas pertenecen a la familia botánica *Leguminosae* o *Fabaceae*, se divide en tres grupos o subfamilias: Mimosoideae, Caesalpinoideae y Papilioideae; estas últimas es el grupo más avanzado con una gran variedad

morfológica y adaptabilidad, son las que están cultivadas ampliamente y son utilizadas para pastura o forraje, incluyendo más de 200 géneros y unas 12,000 especies que se distribuyen en todo el mundo, encontrándose desde regiones árticas hasta las altas montañas de los trópicos. Generalmente, las plantas de la familia Leguminosae son de origen tropical, siendo el grupo Caesalpinoideae considerado como el tipo más primitivo. Manteniéndose casi exclusivamente como plantas tropicales. La subfamilia Mimosoideae, también ha mantenido características primitivas, pero se ha podido desarrollar en climas cálidos-templados, aquí se incluye la *Leucaena leucocephala* (Bogdan, 1997). La utilización de leguminosas en zonas templadas ha sido en menor escala a comparación de zonas tropicales (Bogdan, 1997; Hess *et al.*, 2003).

Las leguminosas forrajeras, además de cumplir un papel preponderante por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico en la simbiosis con la bacteria *Rhizobium*, que se encuentra en los nódulos de las raíces, su composición nutricional las posiciona como forrajes que dan una oportunidad a los sistemas de producción para aumentar la productividad animal y obtener beneficios económicos (Argel, 2005). Sin embargo, pueden contener metabolitos secundarios como los taninos y las saponinas, los cuales modifican la palatabilidad de la planta y el nivel de consumo por parte de los animales. En este sentido algunos estudios relacionan los metabolitos secundarios con problemas reproductivos y con una disminución en la digestibilidad de la materia orgánica cuando dicho consumo es alto (>40 g/kg de MS) (CIAT, 2000; Moss *et al.*, 2000; Jakmola *et al.*, 2010).

3.2.1. Los taninos

Los taninos son encontrados en casi todas las plantas vasculares y presentan un rango extremadamente complejo de compuestos polifenólicos. Su concentración en la planta y su actividad biológica varían dependiendo de las condiciones ambientales (fertilidad del suelo, lluvias o sequia). Los taninos tienen pesos moleculares que pueden oscilar entre 500 y 28,000 daltons y sus moléculas tienen múltiples unidades estructurales (monómeros) (Cortés *et al.*, 2009). Contienen grupos libres hidroxilo y carboxilo que forman

complejos con proteínas y otras macromoléculas. Estos polímeros complejos se ligan a compuestos de la dieta como carbohidratos, proteínas o compuestos carbonados, modificando su digestibilidad (Beauchemin *et al.*, 2008; Tiemann *et al.*, 2008; Patra y Saena, 2010).

Son clasificados como taninos hidrolizables (TH) y taninos condensados (TC), con base en su estructura y naturaleza química. Los TH son relativamente raros en la naturaleza y pueden ser hidrolizados enzimáticamente o bajo condiciones ácidas, con pesos moleculares entre 500 y 3,000 daltons. Los TC están compuestos de unidades de flavonoides y pueden encontrarse libres (solubles) o ligados a proteínas o carbohidratos estructurales, con pesos moleculares entre 1,900 y 28,000 daltons (Tiemann *et al.*, 2008).

3.2.2. Las saponinas

Son glicósidos triterpénicos o esteroídicos unidos a mono y oligosacáridos de alto peso molecular, que al hidrolizarse forman una o varias unidades de carbohidratos ligados, los cuales presentan propiedades físicas, químicas y biológicas diferentes, por ejemplo; hemolizar los glóbulos rojos y la permeabilización del intestino. La cantidad de saponinas en las plantas varía según su orden botánico, especialmente en las semillas de las leguminosas (Patra y Saxena, 2010; Jakmola *et al.*, 2010).

4. FERMENTACION RUMINAL DE LOS COMPONENTES DE LA DIETA

4.1. Carbohidratos

Los hidratos de carbono se componen de una mezcla de monómeros y polímeros que junto con los lípidos constituyen las dos fuentes principales de energía para los animales, se encuentran en un 70 a 80% de las raciones del ganado lechero; son importantes para el mantenimiento de la salud del tracto gastrointestinal, estimulando la rumia y los microorganismos de rumen, ayudando a aumentar el flujo de saliva y las contracciones ruminales (Nocek y Russell, 1988; Nava y Diaz, 2001).

La clasificación de los carbohidratos (Tabla 4) que consumen los rumiantes se divide en: carbohidratos no estructurales que se encuentran dentro de las células de las plantas como azúcares y almidones (fuente almacenable de energía); y en carbohidratos estructurales, también llamados fibrosos, que se encuentran en las paredes celulares de las plantas, pero estas fracciones no son químicamente uniformes. Los rumiantes son los animales que utilizan una mayor proporción de carbohidratos fibrosos que otros herbívoros (Van Soest, 1994; Bogdan, 1997).

Los carbohidratos al entrar al rumen son hidrolizados por enzimas extracelulares de origen microbiano. En el caso de los carbohidratos fibrosos, su lisis requiere de una unión física de las bacterias a la superficie de la partícula vegetal, la acción de las enzimas bacterianas libera principalmente glucosa y oligosacáridos hacia el líquido ruminal. Estos productos no son aprovechados por el rumiante, en su lugar, son rápidamente absorbidos por la microbiota ruminal; una vez en el citosol de los microorganismos se incorporan a la vía de la glucólisis, dando lugar a la formación de NADH+H (reducido), ATP y piruvato (Koenig *et al.*, 2003).

Tabla 4. Clasificación de los carbohidratos dentro de la dieta de los rumiantes (Church, 2003).

COMPUESTO	LOCALIZACIÓN
<i>Monosacáridos (azúcares simples)</i>	
Pentosas ($C_5H_{10}O_5$)	
Arabinosa	
Xilosa	Pectina, polisacáridos
Ribosa	
Hexosas ($C_6H_{12}O_6$)	
Glucosa	En órganos vegetativos como raíces, rizomas, estolones, coronas y partes inferiores del tallo
Fructosa	
Galactosa	En leche (lactosa)
Manosa	En polisacáridos
<i>Disacáridos ($C_{12}H_{22}O_{11}$)</i>	
Sacarosa	En órganos vegetativos como raíces, rizomas, estolones, coronas y partes inferiores del tallo
Maltosa	
Lactosa	
Celobiosa	Porción fibrosa de la planta
<i>Trisacáridos ($C_{18}H_{32}O_{16}$)</i>	
Rafinosa	Semillas de algodón, remolacha azucarera y eucalipto
<i>Polisacáridos</i>	
Pentosanas ($C_5H_8O_4)_n$	
Arabana	Pectinas
Xilana	Madera
Hexosanas ($C_6H_{10}O_5)_n$	
Almidón	En órganos vegetativos, raíces, rizomas, estolones, coronas y partes inferiores del tallo
Dextrina	
Celulosa	Pared celular
Glucógeno	Hígado y músculos animales
Inulina	Papas, tubérculos, alcachofas
<i>Polisacáridos mixtos</i>	
Hemicelulosa	
Pectinas	Pared celular

El piruvato puede funcionar como receptor de electrones, reduciéndose para proveer el material necesario para la regeneración del NAD y FAD. Este proceso da lugar a los productos terminales de la digestión fermentativa de los carbohidratos,

los llamados ácidos grasos volátiles (AGV); Acetato ($\text{CH}_3\text{-COOH}$), Propiónato ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-COOH}$) y Butirato ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$) (Forrest y Walker, 1971; Bhatta *et al.*, 2009), una parte de los cuales son utilizados para formar aminoácidos y ácidos grasos que serán posteriormente incorporados al metabolismo bacteriano; la otra proporción de AGV se difunde a través del epitelio del rumen y retículo incorporarse a la circulación general pasando por la vena porta, aportando el 70% de energía al rumiante. Otros productos finales son el CO_2 (60-70%), CH_4 (30-40%), N (7%), O (0.6%), H (0.6%), Ácido sulfídrico (0.01%), energía calórica, ácido láctico, el ácido succínico y etanol (Boadi *et al.*, 2004; Sharma, 2005; Beauchemin *et al.*, 2008).

4.2. Lípidos

Los lípidos son compuestos orgánicos que son relativamente insolubles en agua, pero solubles en solventes orgánicos (etanol, metanol, acetona, cloroformo, tolueno); realizan importantes funciones bioquímicas y fisiológicas en los tejidos animales y vegetales al formar parte de las capas lipídicas de las membranas celulares (fosfolípidos y colesterol), son reserva energética y dan lugar a sustancias que catalizan funciones orgánicas como hormonas, prostaglandinas y vitaminas lipídicas, reducen el riesgo de acidosis ruminal pues evitan la disminución en la producción de grasas lácticas en dietas pobres de forrajes fibrosos. Las raciones de los rumiantes contienen generalmente entre 2 y 5% de lípidos, de los cuales la mitad aproximadamente son ácidos grasos, se pueden encontrar en forma de diglicéridos de galactosil (Doreau y Ferlay, 1995; Church, 2003).

Las grasas de los alimentos sufren dos importantes transformaciones en el rumen: la lipólisis, es decir, la liberación de los ácidos grasos de los ésteres presentes en los lípidos de los alimentos y la biohidrogenación, que es el proceso de saturación de los dobles enlaces presentes en los ácidos grasos, originando como producto final ácidos grasos saturados (AGS) no esterificados de origen alimentario y microbiano (70%), además de cantidades variables de fosfolípidos microbianos (10-20%) (Bauchart, 1993). Los AGS son absorbidos principalmente en el intestino delgado, específicamente el tramo medio y final del yeyuno (Demeyer y Doreau, 1999).

4.3. Proteínas

Los microorganismos del rumen además de aprovechar las fuentes de carbono que aportan las proteínas, son capaces de utilizar fuentes sencillas de N como urea, aminoácidos, nitratos; también conocido como nitrógeno no proteico (NNP). Hay un tipo de proteínas que escapan de la digestión ruminal, llegando al intestino sin modificarse, conocidas como proteínas de paso del rumen (fracción B3 de la proteína), las cuales están ligadas a los niveles de taninos en el forraje y puede encontrarse de 23.8% a 62.47% en leguminosas tropicales (Church, 2003). Son digeridas en el intestino por acción de las enzimas pepsina, tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidasa y aminopeptidasa en forma similar a la digestión proteica en los monogástricos (Hall, 2003; Koenig *et al.*, 2003).

A medida que las proteínas y el NNP entran al rumen son atacados por organismos proteolíticos y enzimas microbianas extracelulares, la mayor parte de estas enzimas son endopeptidasas parecidas a la tripsina y forman péptidos de cadena corta como sustratos terminales. Estos péptidos se originan extracelularmente y son absorbidos hacia el interior de los microorganismos. En el citosol los péptidos son degradados a aminoácidos y éstos son utilizados para la formación de proteína microbiana o son degradados todavía más para la producción de energía a través de la vía de los AGV de cadena ramificada o isoácidos conocidos como ácido isobutírico, ácido isovalérico y ácido 2-metilbutirato (formados por los aminoácidos: valina, leucina e isoleucina), utilizados por las bacterias como factores de crecimiento (Nava y Díaz, 2001; Church, 2003).

Los aminoácidos desaminados dan lugar al amoniaco, que es el principal compuesto nitrogenado que utilizan los microorganismos para la síntesis de otros aminoácidos, proteínas y ácidos nucleicos. El amoniaco liberado en el rumen es absorbido a la sangre, conducido al hígado en donde se forma urea, la cual se puede reciclar en la saliva o eliminarse a través de la orina (Eastridge, 2006).

5. PRODUCTOS DE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y LA METANOGENESIS ENTÉRICA

Los hidrógenos liberados principalmente por bacterias acetógenicas durante los procesos de síntesis de acetato y butirato, deben ser removidos para mantener una presión baja y que exista una eficiencia energética durante los procesos de fermentación anaeróbica en el estómago del rumiante (Beauchemin *et al.*, 2008). Las principales vías de remoción de hidrógenos (Figura 2) se hacen a través de la biohidrogenación de ácidos grasos insaturados, la formación de ácido propiónico y su utilización por arqueas metanogenas, las cuales producen a su vez CH₄ entérico (Klass, 1984; Van Soest, 1994; Attwood y McSweeney, 2008).

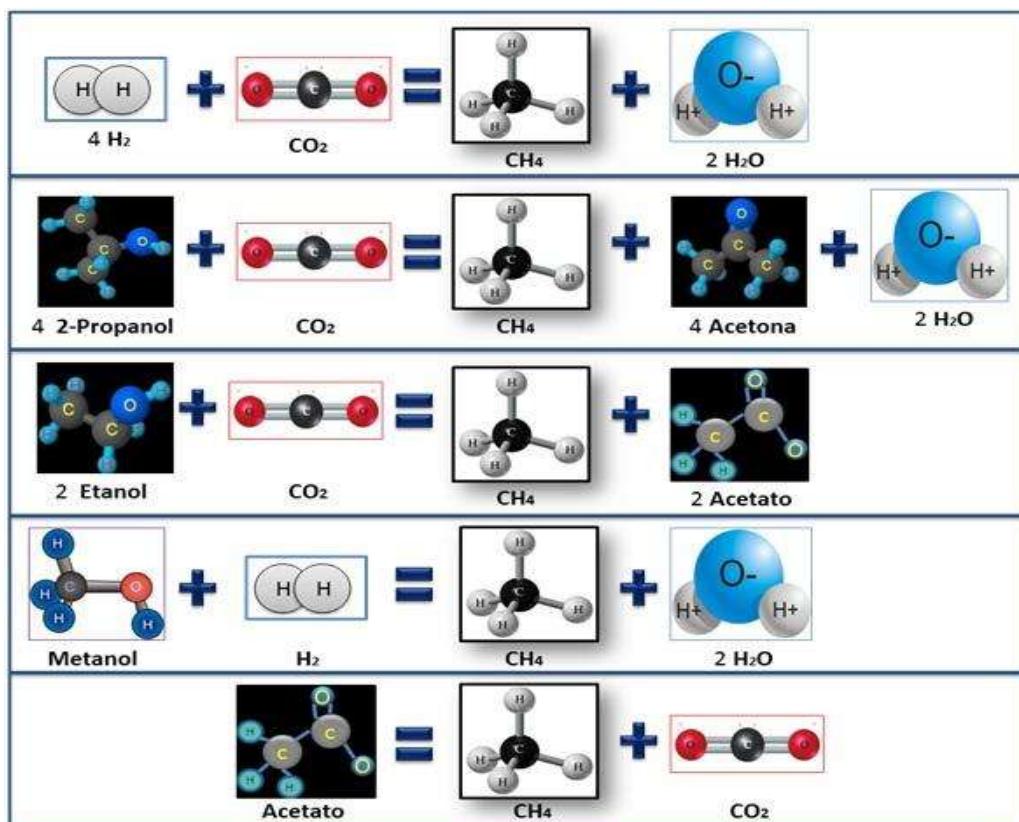


Figura 2. Metanogénesis según productos de la fermentación ruminal (Kajikawa *et al.*, 2003.)

Los “eructos de metano” por el ganado comienza aproximadamente 4 semanas después del nacimiento, y continúan aumentando cuando el animal empieza a ingerir sólidos, al desarrollarse los compartimientos retículo, rumen, omaso y el

canal reticular desaparece. El ganado puede producir de 250 a 500 L de CH₄ por día, existiendo variación diaria de la emisión con un coeficiente de variación de \pm 8% de la cantidad de CH₄ producido (FAIP, 2003). Aunque casi siempre se ha considerado que en el rumen ocurre sólo producción de CH₄, también se ha estudiado la utilización (oxidación) de este gas por microorganismos metanotróficos, resultando que dicha oxidación tiene muy poca importancia cuantitativa en la producción neta de CH₄ por los rumiantes (Bergman, 1990; Kajikawa *et al.*, 2003).

El CH₄ como producto final, constituye una pérdida del 2% al 16% de energía bruta (EB) para el animal (Moss *et al.*, 2000). Por ejemplo, Gerber *et al.*, (2011) demostraron una fuerte correlación ($R^2=0.72$) entre la producción de leche por vaca y la intensidad de emisiones de gases de efecto invernadero producidas, incluido el metano (Figura 3), siendo los animales que producen más leche por lactancia los que muestran menor producción de metano. Una razón de este comportamiento, es que las ganancias de productividad pueden ser alcanzadas gracias a una combinación de métodos genéticos, como la selección de vacas altamente productoras de leche; la eficiencia del alimento, al utilizar concentrados o dietas balanceadas; el procesamiento de los forrajes, para que el aporte de carbohidratos no estructurales sea mayor que los estructurales. Esto se apoya por estudios donde se han determinado que los factores más importantes que intervienen en la producción de CH₄ son: el nivel de consumo del alimento, el tipo de hidratos de carbono en la dieta, el procesamiento de los piensos, la adición de lípidos o ionóforos a la dieta, y las alteraciones en la microflora y el pH ruminal (Johnson y Johnson, 1995; Demeyer y Fievez, 2000; Sauvant y Giger-Reverdin, 2009).

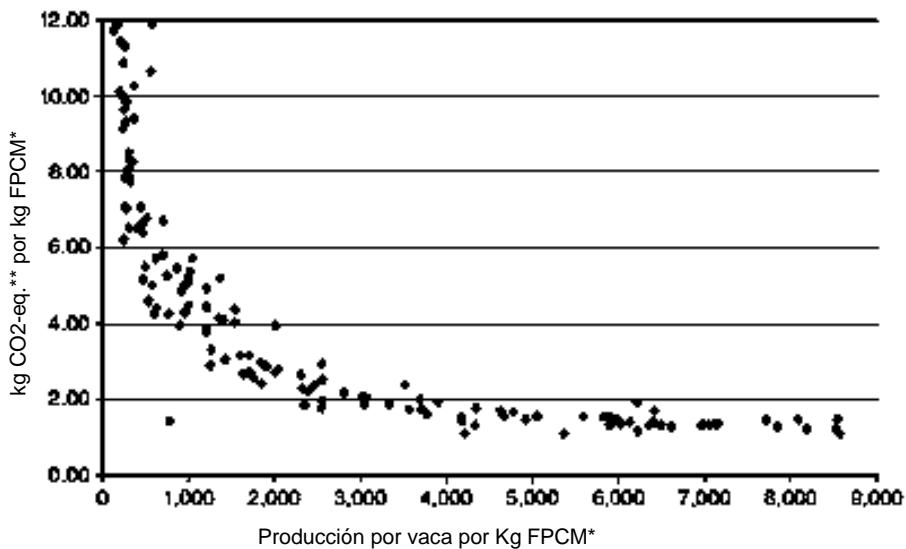


Figura 3. Relación entre las emisiones totales de gases de efecto invernadero y la producción por vaca. Cada punto representa un país en la base de datos (Gerber *et al.*, 2011).

*Por sus siglas en inglés corrección por grasa y proteína en la leche (FPCM)

**Proporción de bióxido de carbono equivalente

5.1. Emisión de CH₄ entérico en rumiantes y su relación con los forrajes

El tipo de forraje que consumen los animales, es un factor que interviene en las variaciones de la emisión de CH₄ entérico en el ganado, ya que al evaluar diferentes especies forrajeras, su composición nutricional cambia dependiendo del tipo de planta que se esté estudiando o el lugar donde se desarrollen; al respecto; Mieres *et al.* (2002) encontraron que el uso de pasturas nativas producía mayores cantidades de metano por unidad de materia seca consumida que una pastura mejorada o introducida resultado de sus características composicionales.

5.1.1. Potencial metanogénico entre plantas C3 y C4

Estudios previos revelan que el consumo de forrajes tipo C4 en comparación con los C3 está relacionado con una menor producción leche y/o carne, lo cual resulta en una mayor emisión de metano por unidad de producto generado (Tabla 5) (Archimède *et al.*, 2011; Waghorn y Hegarty, 2011). La mayor producción de metano en los forrajes C4 puede deberse a un mayor contenido de carbohidratos

estructurales y lignina en la composición de la pared celular, por lo que la tasa de pasaje será mayor y el consumo del forraje menor (McAllister *et al.*, 1996; Kamra *et al.*, 2010). Asimismo las ecuaciones desarrolladas por Moe y Tyrrell, (1979) usando 404 ensayos desarrollados con ganado de leche, sugieren que dietas a base de carbohidratos estructurales producen mayores proporciones de metano por unidad degradada que aquellas donde prevalecen los carbohidratos no estructurales.

Tabla 5. Tipo de forraje y la producción de CH₄ *in vivo* expresado como L/kg en consumo de materia seca (MS) (Archimède *et al.*, 2011).

	CH ₄ (L/kg consumo de MS)
Gramíneas	
Tipo C3	30.0 ^b
Tipo C4	33.7 ^c
Leguminosas	
Templadas	30.1 ^b
Tropicales	25.9 ^a
SEM	1.77
R2	0.77
P	0.001

a,b,c Diferencias literales (P≤0.05).

Sin embargo, otras investigaciones indican que no hay efecto del tipo de especie C3 o C4 sobre las emisiones de metano (Klevenhusen *et al.*, 2009). Además en forrajes tropicales y templados no se ha encontrado una clara asociación entre los componentes de la dieta y la producción de metano (Clark *et al.*, 2005). Lo que sugiere una relación en mayor medida al nivel de consumo, tasa de degradación y paso de los forrajes (Muetzel *et al.*, 2009; Pinares-Patiño *et al.*, 2008) que solo a la composición de la dieta (Sun *et al.*, 2011). Es por esto que hay que ser cuidadoso al generalizar estos resultados y debe hacerse una mayor investigación en torno a la producción de metano en especies C3 y C4 (McCrabb y Hunter, 1999; Clark *et al.*, 2005).

5.1.2. Potencial metanogénico de las leguminosas en comparación con las gramíneas

La presencia de metabolitos secundarios condensados como taninos y saponinas en leguminosas, árboles y arbustos forrajeros pueden reducir las emisiones de metano al alterar la metanogénesis ruminal (Waghorn *et al.*, 2006; Bhatta *et al.*, 2009), debido principalmente a la defaunación selectiva de microorganismos metanógenos en el rumen o de bacterias celulolíticas, por ejemplo; las saponinas interactúan con el colesterol presente en la membrana del protozoario causando su lisis (Hess *et al.*, 2003, Jakmola *et al.*, 2010). Sin embargo, no todas las saponinas tienen el mismo efecto (Hess *et al.*, 2003; Beauchemin *et al.*, 2008). Algunas investigaciones sugieren que no existe una relación directa entre la adición de saponinas, la defaunación y la reducción en la producción de metano, pues las poblaciones microbiales se adaptan a la presencia de las saponinas, degradándolas; por lo cual su efecto no sería permanente en el tiempo (Hess *et al.*, 2003; Getachew *et al.*, 2005).

La defaunación selectiva de microorganismos metanogénicos ruminales se ha asociado con la reducción entre un 15 y 40% de la producción de metano (Martínez *et al.*, 2011), por lo que De Klein *et al.*, (2008), señalaron que la inclusión de leguminosas en la dieta podría disminuir la producción de metano por unidad de MS hasta en un 53%, ya que además de su contenido de metabolitos secundarios, tienen un menor contenido de fibra, reducen el pH, ocurriendo un aumento de amonio, AGV y cambiando la relación propiónato : acetato en el rumen, además de una mayor tasa de pasaje (Mieres *et al.*, 2002; Waghorn y Hegarty, 2011). Sin embargo, la mayoría de los estudios *in vitro*, muestran que esta reducción en la producción de CH₄ respecto a las gramíneas, fue acompañada por efectos negativos sobre la digestibilidad de la fibra (Hess *et al.*, 2003; Grainger *et al.* 2007; Tiemann *et al.*, 2008).

6. GANADERÍA, IMPACTO AMBIENTAL Y CAMBIO CLIMÁTICO

6.1. Generalidades

El sector agropecuario o primario, está conformado por la agricultura y la ganadería, el cual está relacionado directa e indirectamente (sus productos y subproductos) en la subsistencia de los seres humanos (FAO, 2012). Sin embargo, la expansión de la población ganadera y sus transformaciones, la inestabilidad y el intenso proceso de globalización ha dado como resultado que las actividades pecuarias tengan un impacto significativo en prácticamente todas las esferas del medio ambiente: directamente como en el pastoreo o indirecto como la destrucción de bosques para ampliar la superficie destinada al cultivo de otros forrajes. Esto ha ocasionado una influencia dentro del cambio climático, en el aire, la tierra, el suelo, el agua y la biodiversidad. Como claro ejemplo, la producción de carne y leche de vacuno contribuyen en un 41 y 20% de las emisiones de GEI (CO_2 , CH_4 y N_2O) mundiales por parte del sector ganadero, correspondiendo a 4.6 Gigatoneladas de $\text{CO}_2\text{-eq}$ (lo equivalente a emisiones de bióxido de carbono) (Tabla 6), superando la producción de carne de cerdo, aves de corral de carne y huevo que contribuyen al 9% y 8%, respectivamente (Figura 4). En México, esta proporción no cambia; obteniendo un mayor porcentaje de emisiones de CH_4 por parte del ganado rumiante (Tabla 7) que por otros animales a lo largo de los años (Pachauri *et al.*, 2007; SEMARNAT, 2008).

Tabla 6. Algunas fuentes de emisión de gases de efecto invernadero (GEI) en rumiantes (SEMARNAT, 2008).

	GEI	FUENTE
	CH_4	<ul style="list-style-type: none">• Fermentación entérica• Manejo de excretas
Producción por unidad animal (actividad ganadera)	N_2O	<ul style="list-style-type: none">• Directo o indirecto manejo de excretas• Energía directa y combustibles fósiles en sistemas de producción animal• Respiración• Fermentación entérica
	CO_2	

Tabla 7. Proporciones de emisión de metano por animales domésticos del año 1990 al 2002 en México (SEMARNAT, 2008).

	1990	1992	1994	1996	1998	2000	2002
Bovinos de leche	8.21	8.69	9.29	10.13	10.62	12.22	12.40
Bovinos de carne	81.53	81.06	79.78	78.85	78.90	77.22	77.12
Ovinos	1.58	1.69	1.81	1.81	1.66	1.74	1.80
Caprinos	2.82	2.69	2.89	2.81	2.59	2.51	2.56
Equinos	2.98	3.10	3.20	3.38	3.36	3.44	3.40
Mulas y burros	1.42	1.4	1.36	1.36	1.26	1.20	1.09
Porcinos	1.35	1.25	1.52	1.49	1.41	1.46	1.40
Aves	0.10	0.11	0.15	0.18	0.19	0.20	0.22

Según datos de la FAO, a nivel mundial el uso de carburantes y sus derivados representan el 82% de la producción total de estos agentes, mientras la agricultura y ganadería son responsables de un 18% (Figura 5), de los cuales el 5% corresponde al CO₂, un 47% al N₂O y un 48% al CH₄ (FAO, 2012). En México, se genera el 1.5% de las emisiones globales de GEI (Tabla 9) y las emisiones *per cápita* se acercan al promedio mundial de 4.3 t/*per cápita*. La contribución por categorías en términos de CO₂-eq es la siguiente: desechos: 14.1% (99,627.5 Gg); uso del suelo, cambio de uso del suelo y silvicultura: 9.9% (70,202.8 Gg); procesos industriales: 9% (63,526 Gg); agricultura: 6.4% (45,552.1 Gg); y energía: 60.7% (430,097 Gg) (SEMARNAT, 2008).

6.2. El metano y el calentamiento global

Para poder juzgar el papel que juega el metano en el contexto del calentamiento global, se deben conocer principios básicos de los gases de efecto invernadero (al que pertenece el metano); los cuales son referidos como cualquier constituyente gaseoso de la atmósfera que tiene la capacidad de absorber y re-emisir radiación infrarroja. Estos gases han mantenido la temperatura media de la Tierra (15°C) y se pueden clasificar en aquellos generados de manera natural o aquellos emitidos como resultado de las actividades socio-económicas o actividades antropogénicas del hombre. Sin embargo, desde su conformación, el Panel Intergubernamental de Expertos sobre Cambio Climático (IPCC, por sus siglas en inglés) ha informado que el incremento de gases efecto invernadero (GEI) en la atmósfera, como resultado de las acciones a partir de la revolución industrial (durante la segunda mitad del siglo XVIII) (INECC, 2006); han propiciado en parte el calentamiento global, el cual es definido como el aumento de la temperatura superficial terrestre, debida al aumento de la cantidad de gases de efecto invernadero en la atmósfera. Lo cual a su vez causa un cambio climático global, este término precisa el conjunto de cambios ambientales afectados por la actividad humana, con especial referencia a los cambios en los procesos que determinan el funcionamiento del sistema Tierra; o sea, aquellas actividades que, aunque ejercidas localmente, tienen efectos que transcinden el ámbito local o regional para afectar el funcionamiento global de la Tierra (INECC, 2006; IPCC, 2013)

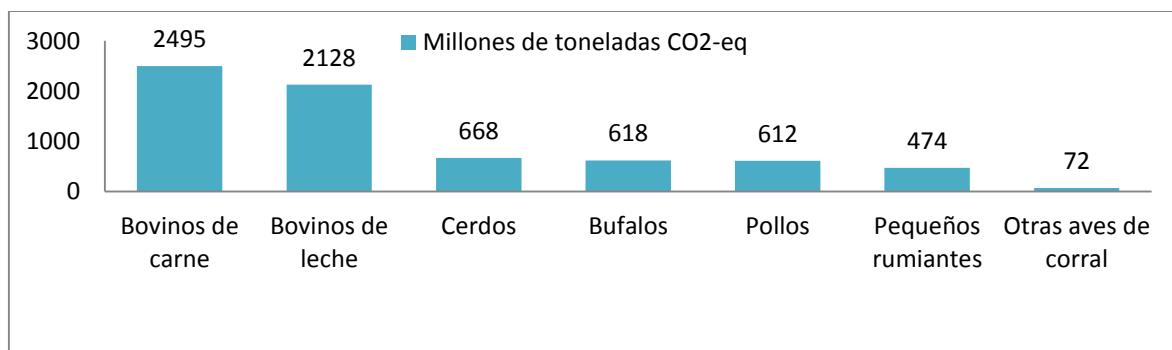


Figura 4. Estimación global de emisiones de metano por animales de producción* (Pachauri *et al.*, 2007).

*Incluye las emisiones atribuidas a los productos comestibles y otros bienes y servicios, como fuerza de tiro y de lana

Tabla 8. Potencial de calentamiento global de gases de efecto invernadero (GEI)* (INECC, 2006).

GEI	Fórmula química	Potencial de Calentamiento Global
Bióxido de carbono	CO ₂	1
Metano	CH ₄	21
Óxido nitroso	N ₂ O	310
HFC- 23	CHF ₃	11,700
HFC-32	CH ₂ F ₂	650
HFC-125	C ₂ HF ₅	2,800
HFC-134	C ₂ H ₂ F ₄	1,000
HFC-134a	CH ₂ FCF ₃	1,300
HFC-152a	C ₂ H ₄ F ₂	140
HFC-143a	C ₂ H ₃ F ₃	3,800
Hexafluoruro de azufre	SF ₆	23,900
Perfluorometano	CF ₄	6,500
Perfluoroetano	C ₂ F ₆	9,200

*Incluye únicamente los gases de efecto invernadero cuyas emisiones fueron estimadas en el inventario Nacional de Emisiones de Gases de Efecto Invernadero (INEGEI)

Los GEI como el dióxido de carbono (CO₂), el metano (CH₄) y el óxido nitroso (N₂O), tienen distintos potenciales de calentamiento (Tabla 8) (INECC, 2006; Houghton, 2008; IEA, 2012). Este potencial es un índice relativo empleado para comparar el impacto que tiene en el clima la emisión de un kilogramo de un GEI comparado con la emisión de un kilogramo de bióxido de carbono (CO₂-eq), midiéndose en Gigagramo (Gg) (unidad de medida de masa equivalente a 10⁹ gramos, empleada para las emisiones de GEI, donde un gigagramo equivale a 1,000 toneladas). Los valores del índice consideran los efectos radiactivos de cada gas así como sus diferentes tiempos (años) de permanencia en la atmósfera. La representación

exacta del calentamiento por el metano que influye en el clima es importante no sólo porque su influencia durante el siglo XXI lo convierte en el segundo gas de efecto invernadero antropogénico más importante, al poseer un mayor poder de calentamiento que el CO₂, con un tiempo de vida media en la atmósfera de 10 años (Moss *et al.*, 2000) su mitigación podría disminuir las emisiones de GEI sectoriales y nacionales a mediano plazo (IPCC, 2013).

Tabla 9. Emisiones de GEI (kt*) en México respecto al resto de mundo de 2002 a 2008 (SEMARNAT, 2008).

	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Emisiones por Total de países	25,599,327	27,124,799	28,536,594	29,651,362	30,619,450	31,327,181	32,082,583
Emisiones en México	390,781.19	402,068.22	405,709.55	432,665.66	441,653.48	449,860.23	475,833.59
% de emisiones de México respecto a las emisiones globales	1.53	1.48	1.42	1.46	1.44	1.44	1.48

*kilotón o gigagramo

6.3. Consecuencias del calentamiento global

Las proyecciones climáticas actuales sugieren que en un escenario inercial se alcanzarán al menos niveles de concentraciones de 550 ppm y de 650 ppm en el 2050 y en 2100 ppm, respectivamente. Así, concentraciones de 550 ppm se traducirían en un aumento de dos o tres grados centígrados (°C) de temperatura, con una probabilidad del 99% y 69%, respectivamente, dando como resultado la aparición de los efectos del cambio climático (CC), como pérdidas económicas en la producción agropecuaria, disminución de la biodiversidad, así como la aparición o reemergencia de algunas enfermedades infecciosas. También el incremento en la temperatura con eventos extremos como las sequías, las heladas y las inundaciones, las cuales afectaran negativamente la integridad de la población humana y las actividades socioeconómicas (FAO y SAGARPA, 2012).

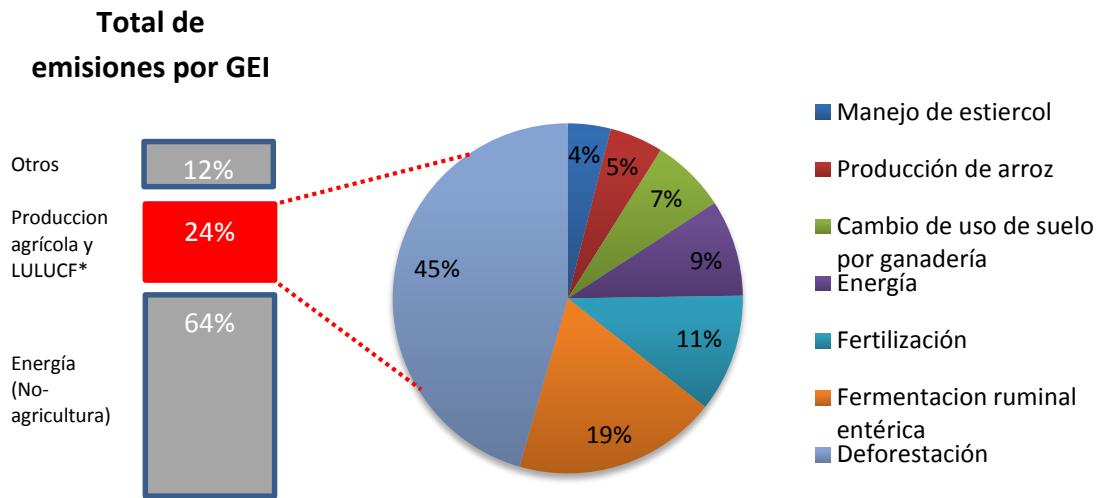


Figura 5. Emisiones de GEI mundiales por sub-sectores, 2010 (UNEP, 2012; FAO, 2012; EIA, 2012; IEA, 2012; Houghton, 2008).

*Por sus siglas en inglés, uso de suelo, cambio de uso de suelo y deforestación (LULUCF).

En cuanto a las repercusiones en el bienestar del ser humano, el CC tiene sus efectos en la producción de alimentos y la seguridad alimentaria, propiciando la incidencia de diversas enfermedades por la escasez de agua, o el desplazamiento de los asentamientos humanos y sus animales por la desertificación o inundaciones (IPCC, 2013).

México resulta ser especialmente vulnerable a los efectos del CC en zonas que serán impactadas por sequías (Noroeste) e inundaciones (Sureste); por fenómenos meteorológicos extremos y por su débil estructura social y económica (Moreno y Urbina, 2008). Se estima que entre el 2020 y 2050 los estados que pueden resentir mayores incrementos en sus temperaturas medias son Guanajuato, Estado de México, San Luis Potosí, Tlaxcala y Veracruz, lo que afectará las actividades humanas, incluidas las agrícolas; los rendimientos de cultivos básicos como el maíz y frijol mostraran tendencias a la baja, además de una pronunciada inestabilidad, lo cual tendrá impactos negativos sobre el ingreso agrícola y generará vulnerabilidad en la seguridad alimentaria (SEMARNAT, 2008; FAO y SAGARPA, 2012).

En la Península de Yucatán, algunos municipios llegarán incluso a reportar pérdidas totales de la producción agrícola. Finalmente, se presentaran impactos negativos por la reducción de precipitación en la producción de pastizales, lo cual incide de manera negativa sobre la producción de carne y leche de bovinos, que si bien no guarda la misma proporción al punto de eliminar la producción, sí podría representar en el largo plazo mayores costos para los productores. El campo siempre estará a merced de los fenómenos climatológicos, generando gran impacto en la producción de alimentos, debido en parte, a que el 82% de la producción se desarrolla bajo condiciones de temporal y únicamente el 18% cuenta con disponibilidad de agua para riego (SEMARNAT, 2008; FAO y SAGARPA, 2012).

Sin embargo, el panorama no es del todo pesimista, los sectores productivos agropecuario y forestal son los únicos que tiene la propiedad de capturar GEI de la atmósfera a través de los ciclos del carbono y nitrógeno. En 2002 de las 643.1 millones de Gg CO₂-eq de emisiones de GEI en México, la absorción total de carbono por la recuperación de áreas forestales fue de 3,513.8 Gg CO₂-eq por año, principalmente proveniente de las áreas abandonadas entre 1993 y 2002. Dicha absorción representó la compensación de casi 3.3% de las emisiones de GEI del sector energía en 2002 (IEA, 2012). Además, Pachauri *et al.*, (2007) establecieron una comparación donde a pesar de la generación de metano por los rumiantes, este parámetro se mide en mg/kg para determinar el CO₂-eq emitido por vaca por litro de leche producido, unidad superior a la utilizada para medir el CO₂-eq que generan las bolsas de plástico, el cual se expresa en gramos. Lo cual pone en énfasis la concientización del productor lácteo para diseñar estrategias que frenen el deterioro del medio ambiente.

Si bien la cuantificación de los efecto del cambio climático pueden variar, dado el conjunto heterogéneo de variables tanto climáticas como económicas, sociales, tecnológicas, demográficas, políticas e incluso de política internacional. Dando como medida necesaria el fortalecimiento acciones por instituciones gubernamentales en materia de reducción de emisiones y adaptación al cambio climático, igual que de seguir generando mayor información que permita realizar

proyecciones con mayor certitud y que permitan anticipar las zonas que requieren de mayor atención para mitigar los efectos adversos del cambio climático. Finalmente, se considera importante instrumentar un esquema de acopio de información que permita el monitoreo y seguimiento de los impactos del cambio climático en el país, haciendo proyecciones a nivel regional y que se incluya la gran diversidad de climas y ecosistemas existentes en México; incluyendo una compleja matriz de interrelaciones entre los impactos climáticos y las estrategias de adaptación y de mitigación subsecuentes (Steinfeld *et al.*, 2009; IPCC, 2013).

6.4. México y su participación en el régimen climático

México, en el plano internacional y durante la negociación del Protocolo de Kioto (ONU, 1998) estuvo sometido a presiones por países desarrollados para incorporarse al Anexo I de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (UNFCCC, por sus siglas en inglés), que comparecía desde 1992. Estos compromisos eran asumidos como “voluntarios” de índole cuantitativa, en relación al objetivo de reducir las emisiones de gases de efecto invernadero (Martínez *et al.*, 2004).

Sin embargo, hasta el 25 de Abril del 2005 el Diario Oficial de la Federación, publica la creación de carácter permanente la Comisión Intersecretarial de Cambio Climático (CICC), siendo el momento en el Gobierno de México reconoce que el impacto de las emisiones de GEI es cada vez más evidente. Esto para la prevención y mitigación de emisiones de gases de efecto invernadero, la adaptación a los efectos del cambio climático, y en general para promover el desarrollo de programas y estrategias de acción climática relativos al cumplimiento de los compromisos suscritos por México en la CMNUCC, en la materia y demás instrumentos derivados de la misma. La CICC elaboró la Estrategia Nacional de Cambio Climático (ENACC) que en mayo 2007, donde se plasman tres estrategias: 1. Impulsar la eficiencia y tecnologías limpias (incluyendo la energía renovable) para la generación de energía; 2. Promover el uso eficiente de energía en el ámbito doméstico, industrial, agrícola y de transporte; 3. Impulsar la adopción de estándares

internacionales de emisiones vehiculares (Martínez *et al.*, 2004; SEMARNAT, 2014).

En la 18 Conferencia de la Partes de la CMNUCC (COP 18), celebrada en Doha, Qatar, a finales de 2012, se aprobó una enmienda al Protocolo de Kioto que formaliza la entrada en vigor del segundo periodo de compromisos y se avanzó en la denominada Plataforma de Durban para la Acción Ampliada. Esta Plataforma tiene el objetivo de lograr un protocolo, otro instrumento o un resultado acordado con fuerza legal para 2015, el cual se implementará a más tardar a partir de 2020. A la par de estos procesos, para los países en desarrollo se impulsan las Acciones de Mitigación Nacionalmente Apropriadas (NAMA) con la posibilidad de ser respaldadas y facilitadas mediante tecnología y financiamiento internacional (SEMARNAT, 2014).

Ahora como estrategias nacionales de cambio climático desarrolladas por SEMARNAT (2014) en colaboración con CICC; se elaboraron seis pilares primordiales para el desarrollo bajo de emisiones y mitigación: 1. Contar con políticas y acciones climáticas transversales, articuladas, coordinadas e incluyentes; 2. Implementar una plataforma de investigación, innovación, desarrollo y adecuación de tecnologías climáticas y fortalecimiento de capacidades institucionales; 3. Instrumentar mecanismos de Medición, Reporte, Verificación y Monitoreo y Evaluación; 4. Desarrollar políticas fiscales e instrumentos económicos y financieros con enfoque climático.; 5. Promover el desarrollo de una cultura climática.; 6. Fortalecer la cooperación estratégica y el liderazgo internacional.

7. TECNICAS PARA ESTIMAR LA DIGESTIBILIDAD DE LOS FORRAJES

La información actual sobre el valor nutritivo de pastos y forrajes se basa en su contenido de proteína, fibra, grasa y ceniza, lo cual se obtiene mediante el análisis tradicional de Weende (Yan y Agnew, 2004). Actualmente, se enfatiza el uso de métodos *in vitro* e *in vivo* que completen la evaluación del alimentos, como su digestibilidad y su contenido de componentes estructurales (FDN, FDA) (Mould *et al.*, 2005). El modelo básico para definir el valor nutritivo de los alimentos es el que representa la digestibilidad durante todo el proceso que ocurre en el tracto gastrointestinal, al igual que una estimación de la tasa de fermentación en el rumen (Baldwin *et al.*, 1970).

Existen métodos que simulan el proceso de digestión y permiten mantener la mayor precisión de los valores de ensayos *in vivo* bajo condiciones experimentales (Niwińska, 2012). Las tres principales técnicas *in vitro* disponibles para determinar el valor nutricional de los forrajes de rumiantes son: la digestión con los microorganismos del rumen (Tilley y Terry, 1963; Menke *et al.*, 1979), digestión con enzimas (De Boever *et al.*, 1986) y la técnica de la bolsa de nylon *in situ* (Mehrez y Ørskov, 1977). Las técnicas *in vivo* son laboriosas, requiere de mucho tiempo para la adaptación de los animales a la ración a determinar, así como grandes cantidades de alimento y su larga escala para evaluar; sin embargo, es la que realmente determina cómo se comporta el alimento de una determinada especie animal, bajo las condiciones medioambientales y el estado fisiológico del animal (Coen y Dehority 1970; Cassida *et al.*, 2007).

7.1. Método *in vivo*

La determinación de la digestibilidad de los alimentos *in vivo*, tradicionalmente se hace mediante la medición del alimento consumido y el alimento que es excretado en heces, analizando el contenido de materia seca del alimento y posteriormente las heces, esta última denominada digestibilidad aparente, ya que no contempla o resta las excreciones de células de descamación y bacterias procedentes del tubo gastrointestinal, al realizar una corrección a esta última se obtendría lo que se

denomina comúnmente como digestibilidad real de los alimentos (Niwińska, 2012).

A partir de los datos de digestibilidad *in vivo* se puede obtener diferente información del comportamiento productivo de los animales (Tilley y Terry, 1963) como son: ganancia diaria del peso, consumo voluntario y digestibilidad de los alimentos; además de determinaciones más específicas como digestibilidad de la materia orgánica (MOd), digestibilidad de las diferentes fracciones de fibra, o realizando una corrección al considerar la excreción de orina y cuantificar el balance del contenido de nitrógeno, en este caso la cantidad de nitrógeno ingerido y el excretado, nos indican que un animal está reteniendo nitrógeno (balance positivo) o está perdiendo nitrógeno (balance negativo) (Baldwin y Allison, 1983; Niwińska, 2012).

7.1.1. Técnica de la bolsa de nylon (*in sacco*).

Se ha venido utilizando durante muchos años para proporcionar estimaciones tanto de la tasa como del grado de degradación o fermentación de los componentes de la alimentación. Estos parámetros se miden mediante la colocación de los forrajes dentro de bolsas de tela para después incubarlos por ciertos intervalos de tiempo dentro del rumen del animal. Sin embargo, la técnica sola no proporciona una estimación precisa de la digestión *in vivo* (Judkins *et al.*, 1990).

7.2. Métodos *in vitro*

Los métodos *in vitro* tienen la ventaja de utilizar un mayor número de alimentos y repeticiones de los mismos, además, el mantenimiento de las condiciones experimentales permiten controlar una serie de factores extrínsecos (ejemplo: eliminar el efecto animal). Las técnicas *in vitro* más utilizadas son: el método de celulasas, el método de Tilley y Terry (1963) y el método de producción de gas (Menke y Steingass, 1988; Theodorou *et al.*, 1994).

7.2.1. La técnica de Tilley y Terry (1963)

Se vuelve un importante instrumento para evaluar los alimentos para rumiantes, es usado cuando se requieren pruebas de alimentación a gran escala; se empleado en

muchos laboratorios para la evaluación de forrajes e involucra dos etapas; en la primera los forrajes son sometidos a una fermentación de 48 h en solución buffer que contiene líquido ruminal y saliva artificial, la segunda etapa consiste en la digestión por otras 48 h con pepsina en una solución ácida. El método fue modificado por Goering y Van Soest (1970), en el que el residuo después de 48 h de incubación es tratado con una solución neutro detergente para estimar la materia seca verdaderamente digestible (MSVD). Aunque el método de Tilley y Terry (1963) ha sido extensivamente validado con valores *in vivo* los métodos aparecen con desventajas (Van Soest, 1994).

7.2.2. Producción de gas *in vitro*

La determinación de la producción de gas *in vitro* es importante para los nutricionistas porque proporciona información sobre la cinética de la fermentación de los alimentos consumidos por los rumiantes, la cual depende del tiempo de residencia del alimento en el rumen y de su tasa de degradación. Así, los alimentos con altas tasas de fermentación tienden a consumirse en mayor cantidad (Mould *et al.*, 2005).

La técnica de producción de gas *in vitro* permite determinar la modificación en el forraje por los tratamientos químicos y biológicos, así como los efectos de compuestos secundarios en la actividad microbiana ruminal, describir la cinética de fermentación, analizar efectos asociativos de diversos alimentos, examinar el efecto de aditivos en la fermentación ruminal e identificar la composición de gases de la fermentación (Getachew *et al.*, 2005; Posada y Noguera, 2005). Hay dos formas de medir la fermentación microbiana de los alimentos a partir del volumen de gas producido *in vitro*: a) Determinando el volumen de gas producido a presión atmosférica, b) Estimarlo partir de los cambios de presión que tienen lugar en recipientes de volumen fijo. Para obtener la digestibilidad en este proceso, al finalizarse el tiempo de incubación el residuo se somete, según la técnica de Van Soest (1991), a una solución neutro detergente para estimar el porcentaje de digestibilidad de la materia seca *in vitro* (%DIVMS) (Theodorou *et al.*, 1994; Cottle *et al.*, 2011).

8. TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN DEL CH₄ EN RUMIANTES

En las diferentes investigaciones sobre digestión anaerobia que tienen lugar en los pre-estómagos de los rumiantes, una de las variables a medir es la concentración porcentual de los gases producidos, por lo que generan CO₂ y CH₄, los que representan más del 90% del gas generado y en su conjunto reciben el nombre de biogás. Las técnicas utilizadas desde hace poco más de cuatro décadas para determinar la producción de CH₄ en rumiantes comprenden Espectroscopia de Infrarrojo Cercano, Espectroscopia de masa, Cromatografía de gases, entre otros (Johnson y Johnson, 1995).

8.1. Espectroscopia de Infrarrojo Cercano (NIR)

Su principio es que al irradiar con un haz de luz monocromática los materiales orgánicos, estos (en función de la naturaleza de los enlaces y cargas electrostáticas existentes entre sus átomos y moléculas) absorben una determinada cantidad de energía expresándose en *reflectancia* (log reflectancia estándar) (Morcillo, 1981). Se han evidenciado variaciones en los resultados obtenidos por la misma muestra en diferentes laboratorios y puede deberse a los métodos analíticos, diferentes procedimientos de manipulación o contaminaciones (manejo de la muestra) (Reeves III, 2000).

8.2. Espectroscopia de masa

Es una técnica de análisis cualitativo para la determinación de estructuras orgánicas, por si sola o en combinación con otras técnicas de espectrofotometría. Se basa en la obtención de iones a partir de moléculas orgánicas en fase gaseosa; una vez obtenidos estos iones, se separan de acuerdo con su masa y su carga y finalmente se detectan por medio de un dispositivo. Esta técnica no utiliza ningún tipo de radiación por lo que no se puede considerar como técnica espectroscópica, además de que al obtener el espectro se tienen lugar procesos químicos, con lo que la muestra se destruye y no puede recuperarse (Eng *et al.*, 1994).

8.3. Cromatografía de gases

El método por cromatografía de gases, emplea un sistema equipado con un instrumento detector de la conductividad térmica, que trabaja a una temperatura máxima de 400°C aproximadamente; en el cual se introduce el gas analizar que circulara en dos o más columnas; las columnas utilizan gases acarreadores que separan los componentes del gas injectado en: H₂, O₂, N₂, CO₂, CH₄, o los compuestos con un peso molecular menor a 1,000 mol por medio de un mecanismo de partición (cromatografía gas líquido), de absorción (cromatografía gas sólido) o, en muchos casos, por medio de una mezcla de ambos. Los gases portadores utilizados en cromatografía no afectan en principio, a la separación ya que no tienen ninguna influencia sobre los procesos de sorción-desorción o de partición que se producen en la columna (McCarty, 1982; Abdalla *et al.*, 2007).

Los cromatógrafos pueden contener el sistema de detección como el Infrarrojo (IR), el de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) o el espectrómetro de Masas (MS). Sin embargo, estos sistemas son muy costosos, es por ello que la mayoría de los laboratorios cuentan con cromatógrafos con sistemas de detección sencillos como el detector de ionización de flama (por sus siglas en inglés, FID) o el detector de conductividad térmica (por sus siglas en inglés, TCD), para cromatografía de gases o detectores de absorbancia. En el caso de cromatografía de líquidos, el índice de refracción (Grainger, 2007). La única información cualitativa que pueden ofrecer estos sistemas es el tiempo de retención del analito, el cual, solo puede ser usado al controlar las condiciones cromatográficas como: flujo, temperatura, tipo de fase estacionaria en el caso de gases o composición química de la fase móvil. Sin embargo, se puede dar el caso que dos compuestos tengan el mismo tiempo de retención, lo que imposibilita su identificación. Por supuesto que, a partir de cromatogramas obtenidos con diferentes fases móviles (para cromatografía líquida) y estacionarias y a diversas temperaturas de elusión (para cromatografía gaseosa), se puede obtener datos adicionales (Grainger, 2007; Pinares-Patiño *et al.*, 2008).

En experimentos para medir las emisiones gaseosas de los rumiantes se han utilizado metodologías e instalaciones como:

8.4. Calorimetría

Esta se realiza utilizando cámaras respirométricas, que pueden ser de circuito abierto o cerrado, caperuzas (head boxes), cámaras ventiladas y máscaras (McLean, 1972; Kelly *et al.*, 1994), que proveen de información de la variabilidad de las emisiones durante el día por animal y entre animales (Abdalla *et al.*, 2007). La máscara se utiliza para recoger las emisiones gaseosas de los animales. Ésta se basa en que el animal respira el aire exterior y el aire expirado se recoge. Las emisiones de metano se determinan midiendo el flujo de aire total que circula por el sistema y la diferencia en la concentración entre el aire inspirado y expirado (Johnson y Johnson, 1995).

8.5. Gases trazadores

Se utilizan gases como hexafluoruro de azufre (SF_6) y consiste fundamentalmente en la liberación de una cantidad conocida del gas trazador contenido en un tubo precalibrado permeable colocado en el rumen que viene desde un capilar puesto en el morro; el aire expirado se almacena en un tubo al vacío colocado alrededor del cuello del animal. Posterior a la colección de aire expirado, el tubo se presuriza con nitrógeno y se determinan las concentraciones de SF_6 y CH_4 por cromatografía. Debe conocerse la tasa de liberación del gas antes de su inserción en el rumen y la medición subsecuente de la relación de este gas en muestras representativas de aire expirado por los animales en prueba, pudiéndose usar en condiciones normales de pastoreo (Kelly *et al.*, 1994; Pinares-Patiño *et al.*, 2008).

8.6. La colecta directa

La técnica se ha ensayado en Argentina, consiste en colectar el gas producido en el rumen, esto mediante una fistula de 2 cm de diámetro, a través de la cual fluye el gas a un contenedor de nylon, tipo globo fijado al lomo, en este caso de una vaca. Una vez colectado el gas por periodos de 24 h se determina su concentración de CH_4 en intervalos de 6 h. Se realiza un análisis del promedio de gas en litros (L) y la concentración de CH_4 en porcentaje (%) (Grainger, 2007).

III. HIPOTESIS

Las principales gramíneas y leguminosas forrajeras del trópico y de clima templado en Michoacán, presentan diferencias en su potencial forrajero y metanogénico *in vitro*.

IV. OBJETIVO

Evaluar el potencial forrajero y metanogénico *in vitro* de diferentes especies de gramíneas y leguminosas forrajeras de la región tropical y templada en el estado de Michoacán, México.

V. MATERIAL Y METODOS

1. Colecta de los forrajes

Las diferentes leguminosas y gramíneas se obtuvieron de dos regiones en el Estado de Michoacán de Ocampo, México:

- a) En la región Morelia que se caracteriza por un clima templado subhúmedo con lluvias en verano (Cw). Humedad media de 74.67%. Con un rango de temperatura de 12 a 22°C y una precipitación de 600 a 1500 mm; localizada en el centro-norte de Michoacán, entre los paralelos 19°52' y 19°26' de latitud norte; los meridianos 101°02' y 101°31' de longitud oeste; con una altitud entre 1 500 y 3 000 msnm (INEGI, 2009). Se recolectaron las leguminosas: alfalfa (*Medicago sativa*), ebo o janamargo (*Vicia sativa*) y guaje rojo (*Leucaena esculenta*) y las gramíneas: avena (*Avena sativa*), cebada (*Hordeum vulgare*), pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y pasto estrella de África (*Cynodon plectostachyus*).
- b) En el municipio de Tuzantla, con un clima tropical subhúmedo con lluvias en verano (Aw). Con una humedad ambiental media de 82.81%, temperatura entre 14 a 28°C y una precipitación de 800 a 1300 mm. Parte de la región de tierra caliente, entre los paralelos 19°00' y 19°27' de latitud norte; los

meridianos 100°26' y 100°47' de longitud oeste; con una altitud entre 500 y 2 700 msnm (INEGI, 2009). Se recolectaron la leguminosa: el guaje (*Leucaena leucocephala*), y las gramíneas: pasto Taiwán (*Pennisetum purpureum*), pasto Tanzania (*Panicum maximum*), pasto llanero (*Andropogon gayanus*) y pasto estrella de África (*Cynodon plectostachyus*).

Todos los forrajes se cortaron en la misma etapa fenológica (inicio de floración), eligiendo praderas ubicadas en una zona de cada región para el corte de las todas las especies forrajeras, tomando muestras en 10 sitios distintos de la superficies cultivadas para tener una muestra homogénea y suficiente para los análisis correspondientes

2. Procesamiento de los forrajes

El estudio de los forrajes se llevó a cabo en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF), localizado en la posta zootécnica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo en el Km 9.5 de la carretera Morelia-Zinapécuaro, en el municipio de Tarimbaro, Michoacán de Ocampo.

A) Procesamiento de los pastos. Los pastos se sometieron a un proceso de henificado, exponiéndose a secado en sombra a temperatura ambiente durante 48 h. Posteriormente se deshidrataron a 65°C durante 24 h en un horno de extracción de humedad. La molienda se llevó a cabo en un molino mecánico, ajustado a un tamaño de partícula ≤1mm. El proceso se aceleró mediante un pulverizador eléctrico de balines a (300 rpm), cuidando que la muestra no se pulverizara (Figura 6).

Cada muestra de pasto molido se almacenó en una bolsa plástica hermética con su respectiva identificación y fecha de procesamiento, protegiéndose de la luz solar y de la humedad ambiental en un desecador vítreo con sílica granulada en el fondo.



Figura 6. Distintos tamaños de partícula, el adecuado para la producción de gas *in vitro* es el del centro.

B) Obtención de materia seca (MS). Las muestras de pasto fueron colocadas en charolas de aluminio de 5.7 cm de diámetro a peso constante, colocándose 5 g de cada muestra en base fresca (BF), para llevarlas de nuevo al horno de secado a 65°C por 24 h. Posteriormente, las muestras se pasaron a un desecador para mantenerlas a peso constante. Una vez registrados los datos se procedió a sustituirlos en la siguiente fórmula y se obtuvo el porcentaje en MS de los forrajes:

$$\% \text{humedad} = \frac{(\text{peso muestra BF} + \text{peso charola}) - (\text{peso seco (muestra+charola)total})}{\text{peso muestra BF}}$$

$$\% \text{MS} = (100) - (\% \text{humedad})$$

3. Técnica de producción de gas *in vitro*

Para estimar la digestibilidad de los forrajes y poder obtener gas para analizar la producción de metano, se utilizó la técnica de producción de gas *in vitro* descrita por Theodorou *et al.*, (1994), para ello se incubaron 0.99 g de MS de cada forraje en frascos de vidrio con capacidad de 125 ml para cultivo. Además del sustrato en los frascos se necesitó un medio de cultivo compuesto de 90 ml de la solución compuesta saliva artificial y 10 ml de líquido ruminal como agente inoculante (Figura 7).

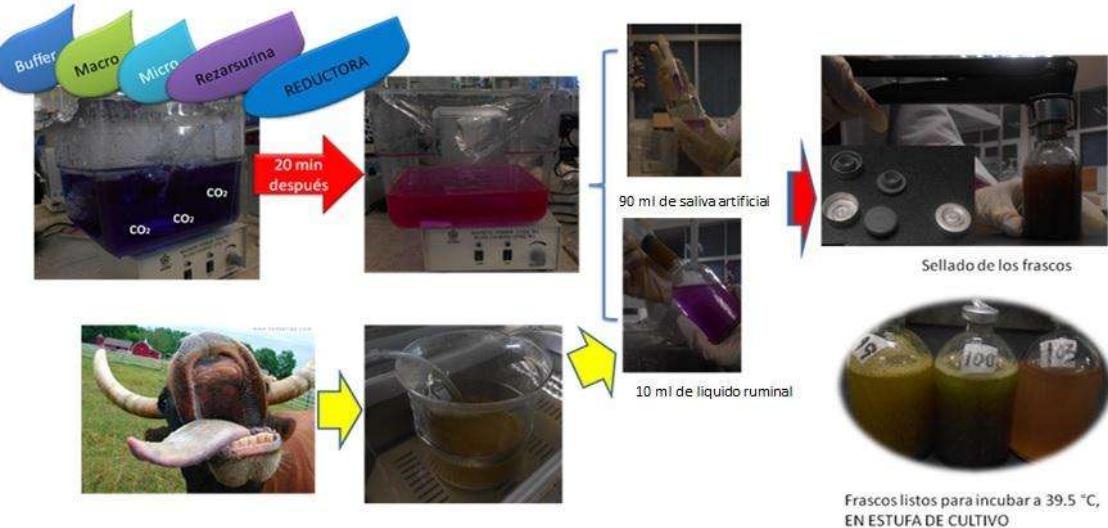


Figura 7. Diagrama de montaje de técnica de producción de gas.

3.1. La saliva artificial

La saliva artificial se preparó con los reactivos y soluciones que se muestran en la Tabla 10; para su preparación se siguió el orden estricto que se marca y se dejaron listas para que después de la colecta del líquido ruminal se pudiera preparar el medio de cultivo para los frascos.

El orden de la preparación del medio fue la siguiente (al momento de la preparación del medio, todas las soluciones estuvieron a 39-39.5°C):

- Agua destilada (1) + Solución Buffer (2) + Solución Elementos Principales (3) + Solución Elementos Traza (4) + Solución de Resazurina (5)
- Gaseado con CO₂ (al menos 20 minutos)
- Solución Reductora

En el inciso “a” La solución tomó un color *azulado*; después de gasear con CO₂ y agregar la solución Reductora, la solución cambió a un color *rosado*, lo cual indicó que el pH fue óptimo (pH 6-7) para comenzar a despachar la solución en los frascos de cultivo. A cada frasco con el sustrato correspondiente (12 forrajes) se les agrego 90 ml del preparado de saliva artificial y posteriormente los 10 ml de líquido ruminal. Los frascos se sellaron herméticamente con tapones plásticos, se agitaron y la

presión interna se normalizó mediante la entrada de aire con una aguja de 22G, para finalmente colocarlos dentro de la estufa de cultivo a 39°C durante 96 h (Figura 8A).

3.2. Colecta del líquido ruminal

El jugo ruminal se obtuvo de dos vacas de la raza Holstein adultas, alimentadas con una dieta de 80% forrajes (alfalfa y pasto estrella) y 20% alimento concentrado comercial (18% PC). Antes de la extracción se utilizaron 0.2 mg/kg de clorhidrato de xilacina para la contención y tranquilización de los animales. La colecta se realizó mediante una sonda orogástrica con punta roma de 0.5" de diámetro y 1.5 m de largo. Por medio de una bomba manual de vacío se realizó la colecta hasta obtener la cantidad de líquido requerida. Al finalizar se cuidó que el líquido no estuviera en contacto con la luz solar directa, se filtró en una tela de una porosidad ≤ 1 mm para evitar el paso de partículas grandes a los frascos al momento de despachar el líquido y se mantuvo a 39-39.5°C, gaseado con CO₂ constantemente hasta que se inoculó al medio de cultivo.

Tabla 10. Orden de los reactivos y cantidad para la preparación del medio de cultivo.

Orden	Reactivos	Cant. por litro	Unidad de medida	Cant. por frasco	Unidad de medida
1	Agua destilada	520.2	ml	46.82	ml
2	Solución Amortiguadora o Buffer	208.1	ml	18.73	ml
2.1	Agua destilada	1000	ml		
2.2	NaHCO ₃	35	g		
2.3	(NH ₄)HCO ₃	4	g		
3	Solución de Elementos Principales o Macromineral	208.1	ml	18.73	ml
3.1	Agua destilada	1000	ml		
3.2	Na ₂ HPO ₄	5.7	g		
3.3	KH ₂ PO ₄	6.2	g		
3.4	Mg SO ₄ x 7 H ₂ O	0.6	g		
4	Solución de Elementos Traza o Micromineral	0.104	ml	0.009	ml
4.1	Agua destilada	100	ml		
4.2	CaCl ₂ x 2H ₂ O	13.2	g		
4.3	MnCl ₂ x 4H ₂ O	10	g		
4.4	CoCl ₂ x 6 H ₂ O	1	g		
4.5	FeCl ₂ x 6 H ₂ O	0.8	g		
5	Resarzurina	1	ml	0.017	ml
5.1	Agua destilada	100	ml		
5.2	Resarzurina	100	mg		
6	Solución Reductora	62.4	ml	5.619	ml
6.1	Agua destilada	950	ml		
6.2	Cisteína HCL	6.25	g		
6.3	NaOH IN	40	ml		
6.3.1	Agua destilada	100	ml		
6.3.2	NaOH	0.4023	g		
6.4	Na ₂ S x 9 H ₂ O	6.25	g		

Para la estimación de la producción de gas, se utilizó un manómetro digital desmontable (Lutton PS, Germany) con un transductor acoplado a una aguja (Figura 8B). Los tiempos de lectura fueron cada hora las primeras 4 mediciones,

posteriormente cada 4 h hasta las 96 h: 1, 2, 3, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40, 44, 48, 52, 56, 60, 72, 84, 96 h. Las mediciones se detectaron en la unidad de medida PSI (por sus siglas en inglés, libra por pulgada cuadrada). Al medir el gas, la válvula del manómetro estuvo cerrada, posterior a la medición, el gas se liberó con la finalidad de estabilizar la presión interna en los frascos, al final de cada medición, los frascos se agitaron y se introdujeron de nuevo a la estufa de cultivo.

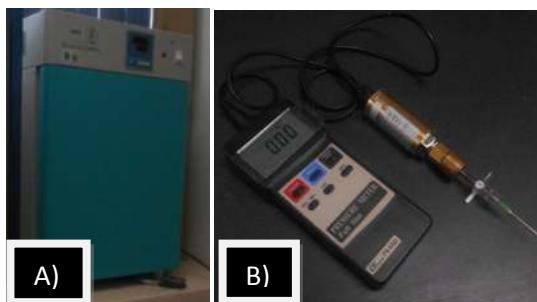


Figura 8. Equipo de laboratorio para técnica de producción de gas.
A) Estufa de cultivo. B) Manómetro desmontable con la válvula abierta.

Las mediciones en PSI se convirtieron a cm^3 para su posterior análisis, esto se realizó en base a la ecuación de calibración $\text{cm}^3 = -0.847691 + 2.87286 * \text{PSI}$, que se obtuvo de una regresión simple, con datos obtenidos del valor de inyecciones sucesivas de 1 a 30 cm^3 de gas ruminal bajo las mismas condiciones de temperatura y presión registrando sus equivalencias en PSI.

4. Medición de metano

Para poder capturar el CH_4 , se procedió a preparar salmuera acida (pH 4), vertiendo 1 L de agua destilada en el vaso de precipitado y saturándola con sal común, la cual se diluyó con ayuda de barras agitadoras magnéticas. Posteriormente se verificó el pH con un potenciómetro portátil (Corning 476613, U.K.) llegando al pH requerido con la adición de ácido clorhídrico (HCl). Una vez lista la salmuera, se despacharon 13 ml de esta dentro de tubos de ensayo (capacidad de 15 ml), dejando 2 ml libres para el gas. Los tubos se sellaron herméticamente y se les sustrajeron 5 ml del aire para que hiciera vacío.

Se capturaron 2 ml del gas producido por cada frasco de cultivo a intervalos de 12 h. Con ayuda del manómetro, se colocó una jeringa de 3 ml en la válvula de escape

y se liberó el gas hasta que se llenase la jeringa, despachando su contenido en los tubos de salmuera ácida.

Para la lectura del metano, las muestras se llevaron a un cromatógrafo de gases modelo Varian Chrompack CP 3800 ubicado en el laboratorio de residuos sólidos del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales unidad San Juanillo de la Universidad Michoacana De San Nicolás de Hidalgo en Morelia, Michoacán. El cromatógrafo utilizó H_2 , aire comprimido extraseco y N_2 como gases de acarreo en una columna empacada de acero inoxidable con sílica gel de 7.5 m de longitud y un diámetro interno de 0.25 mm. En él se inyectaron 0.5 ml de biogás, utilizando como estándar de referencia CH_4 al 99.99% inyectado a diferentes volúmenes para la construcción de curvas de referencia. El software empleado para la lectura de cromatogramas fue el galaxie workstation versión 1.9. Las medidas obtenidas fueron en área y tiempo de retención del CH_4 en sistemas de detección sencillos con los que contó el cromatógrafo (el detector de ionización de flama o FID y el detector de conductividad térmica o TCD). Los valores fueron sustituidos en las siguientes fórmulas para obtener la concentración en porcentaje y ml de CH^4 por cada ml de biogás producido por los forrajes:

$$\% \text{ de } CH^4 = (\text{Área de } CH^4 \text{ del FID} * 100) / (\text{Área total del FID})$$

$$cm^3 \text{ de } CH^4 = (\% \text{ de } CH^4 * \text{Volumen inyectado en el cromatógrafo}) / 100$$

5. Digestibilidad de los forrajes

Para conocer la digestibilidad de los forrajes, se analizó la Fibra Neutro Detergente (FDN) en los residuos de la producción de gas *in vitro*, según la técnica descrita por Van Soest *et al.* (1991). Para esto, al término de la incubación de 96 h, cada uno de los frascos de 125 ml se destaparon y se vació su contenido sin dejar residuo en frascos de vidrio de mayor capacidad (300 ml), etiquetados con el número correspondiente a los frascos vacíos, agregándose 50 ml de solución FDN y se taparon con papel aluminio para someterlos a un proceso de digestión en autoclave a 105°C durante una hora. La solución FDN se preparó en orden y relación de compuestos como lo marca la Tabla 11.

Tabla 11. Orden, proporción y reactivos necesarios para la solución FDN.

Orden	Reactivos	Cantidad	Unidad de medida
1	Agua destilada	20	L
2	Neutral Detergente Solution, Concentrate (Part 1 of 2) Marca ANKOM Technology	1199.6	g
3	Triethylene Glycol (Part 2 of 2) Marca ANKOM Technology	200	ml

Para la filtración de la fibra después de la digestión neutra, se colocaron filtros circulares de papel (Whatman 54, U.K.) de 125 mm de diámetro con poro de 54 μm , etiquetado con el número correspondiente a cada frasco de la autoclave, anotando su peso constante después de mantenerlos por 24 h en la estufa de secado a 65°C. El proceso de filtración se llevó a cabo con la ayuda de un sistema de vacío impulsado por una bomba eléctrica, armando un embudo acoplado a un matraz de toma (Figura 9). Al finalizar el proceso de filtrado, el residuo de fibra se bañó con acetona para eliminar residuos lipídicos, manteniéndose en aireación ambiental durante 2 h, para su posterior desecado en un horno a 65°C por 24 h. Se utilizó la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de la digestibilidad *in vitro* en base de Materia Seca (%DIVMS):

$$\text{%DIVMS} = ((0.999 \text{ g MS} - (\text{Peso del residuo} - \text{Peso del blanco})) / 0.999) * 100.$$

Para estimar el contenido de FDN en cada forraje intacto se colocó 1 g de MS de en bolsas filtrantes (F57, ANKOM, USA), las cuales se pesaron, sellaron e identificaron. Para la digestión se utilizó un equipo para análisis de fibra (ANKOM A200, USA), llenando el contenedor del aparato con solución FDN. El equipo se trabajó durante 1 h a 100°C en movimiento constante. Una vez terminado el

proceso, las bolsas se sumergieron en acetona, se exprimieron y orearon para llevarlas a desecado a 65°C por 24 h. Finalmente, después de normalizarse a peso constante y se registraron los pesos para sustituirlos en la siguiente fórmula:

$$\%FDN = ((0.999 \text{ g MS} - (\text{Peso del residuo} - \text{Peso del blanco})) / 0.999 \text{ g MS}) * 100.$$



Figura 9. Embudos acoplados a matraces en un sistema de vacío por bomba eléctrica (proceso de filtrado).

6. Variables y análisis estadístico

Las variables del presente estudio fueron:

- A) La producción total de gas (cm³)
- B) Proporción (%) de metano/ cm³
- C) Porcentaje de digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca %DIVMS

El análisis comprendió una comparación múltiple de muestras bajo un análisis de varianza completamente al azar con una mínima diferencia significativa empleando el software Statgraphics Centurion XVI (2012).

IV. RESULTADOS

A) Producción total de gas (cm³)

De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 12, comparando la producción de gas de los 12 forrajes estudiados; se encontró que las muestras que presentan un mayor promedio del gas total acumulado a las 96 h de cultivo ($P<0.005$) fue la cebada y la avena, gramíneas cultivadas de clima templado.

Tabla 12. Diferencias en la acumulación de producción de gas *in vitro* a las 96 h de gramíneas y leguminosas de clima templado y tropical en Michoacán, México.

Nombre común del forraje	Nombre científico del forraje	Familia botánica	Clima de la región de colecta	Promedio gas total acumulado (cm ³)
Kikuyo	<i>P. clandestinum</i>	Gramineae	Templada	155.10± 16.59 ^c
Estrella de África	<i>C. plectostachyus</i>	Gramineae	Templada	197.45± 5.43 ^b
Avena	<i>Avena sativa</i>	Gramineae	Templada	278.13± 34.53 ^a
Cebada	<i>H. vulgare</i>	Gramineae	Templada	286.829± 26.71 ^a
Tanzania	<i>P. maximum</i>	Gramineae	Tropical	223.39± 36.25 ^b
Taiwan	<i>P. purpureum</i>	Gramineae	Tropical	177.22± 44.16 ^b
Llanero	<i>A. gayanus</i>	Gramineae	Tropical	218.56± 35.77 ^b
Estrella de África	<i>C. plectostachyus</i>	Gramineae	Tropical	163.29± 52.71 ^b
Guaje	<i>L. leucocephala</i>	Leguminosae	Tropical	156.54± 31.70 ^b
Guaje rojo, colorado o indio	<i>L. esculenta</i>	Leguminosae	Templada	60.69± 20.24 ^d
ebo	<i>Vicia sativa</i>	Leguminosae	Templada	238.93± 33.47 ^b
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>	Leguminosae	Templada	214.66± 53.59 ^b

^{a,b,c,d} Diferente literal en la misma columna indica diferencia significativa ($P<0.005$)

El promedio más bajo en acumulación de gas observado en la leguminosa templada *L. esculenta* con un promedio de 60.69 cm³. El pasto kikuyo fue el que precedió a la *L. esculenta*, con 155.10 cm³, perfilándose como uno de los forrajes de menor producción de gas. A pesar de que las medias del ebo, el guaje, el pasto estrella, Tanzania, Taiwan, alfalfa y llanero fueron diferentes, no presentaron diferencias significativas ($P>0.005$).

Todos los forrajes del estudio se comportaron con una cinética de fermentación similar (Figura 10), y la acumulación en la producción de gas *in vitro* fue ascendente hasta las 96 h de incubación

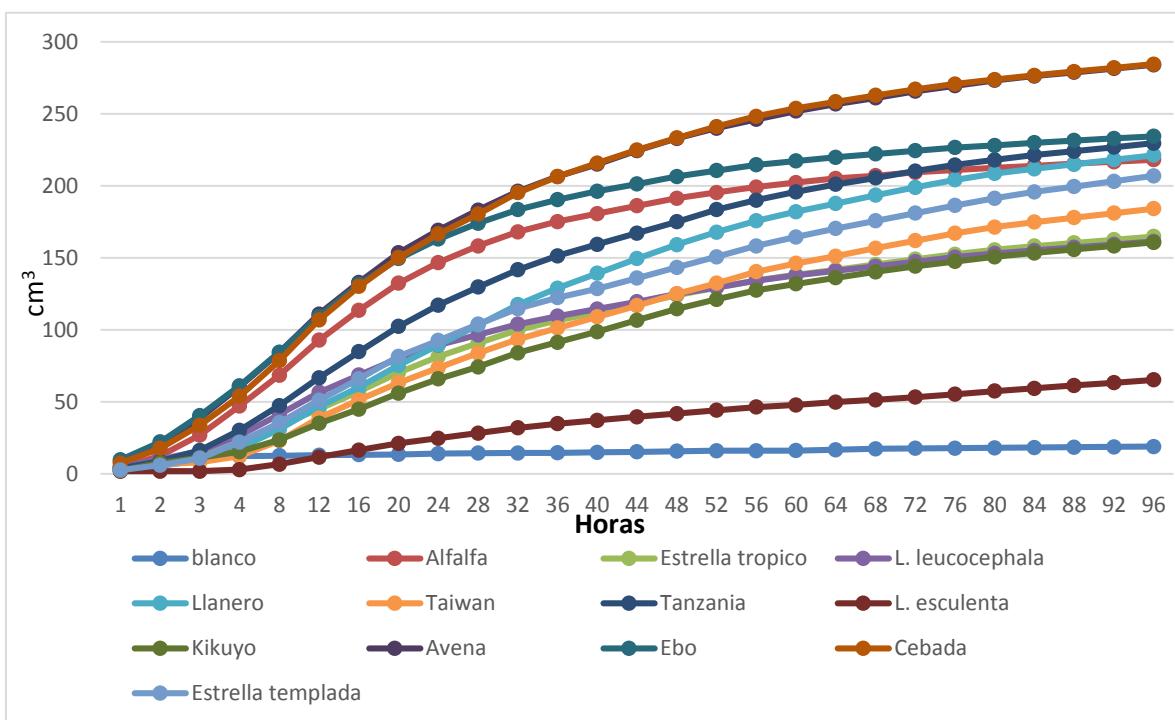


Figura 10. Producción de gas acumulado *in vitro* en cm³ de los forrajes de la hora 1 a la 96

B) Proporción (%) de metano/cm³

En cuanto a la proporción de metano por cada cm³ o ml del gas producido por los forrajes (Tabla 13), se encontró el mayor porcentaje de metano en el pasto Tanzania 38.69%/cm³ ($P<0.005$). También la cebada se perfiló con un alto porcentaje de metano respecto a los demás forrajes con 30.73%/cm³ ($P<0.005$).

Tabla 13. Proporción relativa de CH₄ producido *in vitro* por diferentes especies de gramíneas y leguminosas de clima templado y tropical en Michoacán, México.

Nombre común del forraje	Nombre científico del forraje	Familia botánica	Clima de la región de colecta	Proporción de CH ₄ por cm ³ (cm ³ /cm ³)
Kikuyo	<i>P. clandestinum</i>	Gramineae	Templada	0.1957 ^d
Estrella de África	<i>C. plectostachyus</i>	Gramineae	Templada	0.2284 ^d
Avena	<i>Avena sativa</i>	Gramineae	Templada	0.1742 ^d
Cebada	<i>H. vulgare</i>	Gramineae	Templada	0.3073 ^a
Tanzania	<i>P. maximum</i>	Gramineae	Tropical	0.3869 ^b
Taiwan	<i>P. purpureum</i>	Gramineae	Tropical	0.2000 ^d
Llanero	<i>A. gayanus</i>	Gramineae	Tropical	0.1731 ^d
Estrella de África	<i>C. plectostachyus</i>	Gramineae	Tropical	0.1248 ^d
Guaje, guaje blanco, Guash	<i>L. leucocephala</i>	Leguminosae	Tropical	0.1792 ^d
Guaje rojo	<i>L. esculenta</i>	Leguminosae	Templada	0.1197 ^c
Ebo	<i>Vicia sativa</i>	Leguminosae	Templada	0.2244 ^d
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>	Leguminosae	Templada	0.1906 ^d

^{a,b,c,d} Diferente literal en las columnas indica diferencia significativa (P<0.005)

La *L. esculenta* con 11.97%/cm³ de CH₄, mostro el menor valor en comparación con los demás forrajes del estudio (P<0.005). A pesar de que los demás forrajes se comportaron de manera similar en la producción de CH₄ (P>0.005), la acumulación de este gas a las 96 h de cultivo se relacionó a los valores de la acumulación de gas *in vitro* (Figura 11).

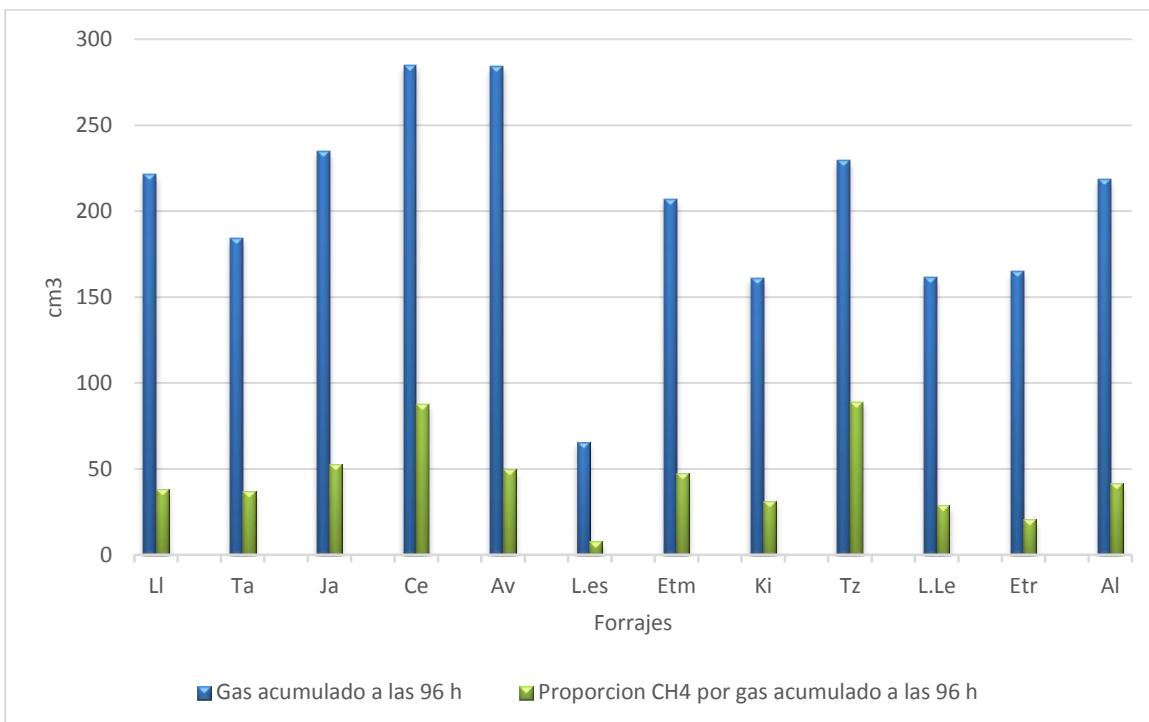


Figura 11. Proporción de gas acumulado y CH₄ a las 96 h en diferentes especies de gramíneas y leguminosas de clima templado y tropical en Michoacán, México

*Las abreviaciones corresponden a: Pasto llanero (LI); Taiwan (Ta); Janamargo (Ja); Cebada (Ce); Avena (Av); *L.esculenta* (L.es); Estrella de África templada (Etm); Kikuyo (Ki); Tanzania (Tz); *L. leucocephala* (L.Le); Estrella de África tropical (Etr); Alfalfa (Al).

C) Digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca

La cebada, la avena y el ebo obtuvieron el mayor porcentaje de digestibilidad *in vitro* en base de Materia Seca (%DIVMS) con 90.48, 88.25 y 87.57 %DIVMS respectivamente ($P<0.05$). Las demás gramíneas y leguminosas independiente de la región donde se recolectaron obtuvieron valores de digestibilidad similares ($P>0.05$) (Tabla 14), exceptuando la *L. esculenta* que tuvo el menor desempeño a comparación de los demás forrajes con un 65.74%DIVMS ($P<0.05$)

Tabla 14. Porcentaje de la digestibilidad *in vitro* de materia seca (%DIVMS) en gramíneas y leguminosas de clima templado y tropical en Michoacán, México.

Nombre común del forraje	Nombre científico del forraje	Familia botánica	Clima de la región de colecta	%DIVMS
Kikuyo	<i>P. clandestinum</i>	Gramineae	Templada	73.86±0.123 ^a
Estrella de África	<i>C. plectostachyus</i>	Gramineae	Templada	75.10 ± 0.016 ^a
Avena	<i>Avena sativa</i>	Gramineae	Templada	88.25±0.008 ^b
Cebada	<i>H. vulgare</i>	Gramineae	Templada	90.48±0.081 ^b
Tanzania	<i>P. maximum</i>	Gramineae	Tropical	81.86±0.118 ^a
Taiwan	<i>P. purpureum</i>	Gramineae	Tropical	73.99±0.052 ^a
Llanero	<i>A. gayanus</i>	Gramineae	Tropical	78.76±0.020 ^a
Estrella de África	<i>C. plectostachyus</i>	Gramineae	Tropical	74.4±0.157 ^a
Guaje	<i>L. leucocephala</i>	Leguminosae	Tropical	83.97±0.085 ^a
Guaje rojo	<i>L. esculenta</i>	Leguminosae	Templada	65.74 ±0.016 ^c
Ebo	<i>Vicia sativa</i>	Leguminosae	Templada	87.57±0.019 ^b
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>	Leguminosae	Templada	83.3±0.085 ^a

^{a,b,c} Diferente literal en las columnas indica diferencia significativa ($P<0.005$)

Se puede observar en la Tabla 15, que, en cuanto al porcentaje de FDN de los forrajes estudiados no se encontró diferencias significativas ($P>0.005$).

Tabla 15. Porcentaje de Fibra Neutro Detergente (%FDN) en gramíneas y leguminosas de clima templado y tropical en Michoacán, México.

Nombre común del forraje	Nombre científico del forraje	Familia botánica	Clima de la región de colecta	%FDN
Kikuyo	<i>P. clandestinum</i>	Gramineae	Templada	66 ^a
Estrella de África	<i>C. plectostachyus</i>	Gramineae	Templada	67 ^a
Avena	<i>Avena sativa</i>	Gramineae	Templada	65 ^a
Cebada	<i>H. vulgare</i>	Gramineae	Templada	67 ^a
Tanzania	<i>P. maximum</i>	Gramineae	Tropical	69 ^a
Taiwan	<i>P. purpureum</i>	Gramineae	Tropical	68 ^a
Llanero	<i>A. gayanus</i>	Gramineae	Tropical	68 ^a
Estrella de África	<i>C. plectostachyus</i>	Gramineae	Tropical	70 ^a
Guaje	<i>L. leucocephala</i>	Leguminosae	Tropical	75 ^a
Guaje rojo	<i>L. esculenta</i>	Leguminosae	Templada	72 ^a
Ebo	<i>Vicia sativa</i>	Leguminosae	Templada	77 ^a
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>	Leguminosae	Templada	73 ^a

^a Diferente literal en las columnas indica diferencia significativa ($P<0.005$)

VII. DISCUSIÓN

A) Producción total de gas (cm³)

Con la evaluación de gas acumulado se puede ver claramente las diferencias en la fermentación de los forrajes (Menke *et al.*, 1979; Krishnamoorthy *et al.*, 1995). El promedio de gas acumulado fue mayor en la cebada y avena; aunque estudios indican que algunas leguminosas como la alfalfa, supera a las gramíneas hasta en un 40% en la producción de gas (Blümmel M. y Becker K., 1997; Juárez *et al.*, 2009); en el presente trabajo, los resultados concuerda con estudios de Singh *et al.*, (2012) donde a la cebada y la avena se les caracteriza por su alto perfil de volumen de gas acumulado, relacionado con su alta DIVMS, debido posiblemente a variaciones de los componentes químicos de las plantas, por ejemplo; el contenido de carbohidratos estructurales y no estructurales o el de proteína cruda (Santoso y Hariadi, 2009).

El bajo promedio que obtuvo la *L. esculenta* incluso por debajo de los demás forrajes, concordó con Salem *et al.*, (2013) donde en comparación con otras leguminosas, la *L. esculenta* obtuvo el más bajo promedio en el total de producción de gas con 53.2 ml/MS tras 72 h de incubación y 63.7 ml/MS después de 96 h (Nherera *et al.*, 1999). La baja producción de gas en leguminosas puede estar atribuido a la cantidad de taninos condensados en la planta; compuestos polifenólicos que varían en la planta cambiando su concentración y actividad biológica según las condiciones ambientales donde se desarrolle la leguminosa; estos polímeros complejos se ligan a compuestos carbonados de la dieta modificando su digestibilidad. También se puede deber a capacidad citotóxica en bacterias celulolíticas o protozoarios, ocasionando una defaunación en la flora microbiana ruminal y por consiguiente un bajo aprovechamiento del sustrato (Chesson y Forsberg, 1997; Tiemann *et al.*, 2008; Theodoridou *et al.*, 2010).

La similitud en las medias de los demás forrajes estudiados, se relaciona según Tan (2011) a factores que tienen más relevancia como etapa fenológica de los pastos, composición química, época de corte, contenido proteico y proporción de pared

celular que al tipo de planta, ya sea C3 o C4 (Cooper y Tainton, 1968; Pérez *et al.*, 2001).

B) Proporción (%) de metano/cm³

El mayor porcentaje de producción de metano por cm³ del pasto Tanzania, planta C4 recolectada en clima tropical concuerda con Archimède *et al.*, (2011), donde en un estudio donde recopilaron información de la producción de CH₄ explican que la producción de metano fue mayor en animales alimentados con gramíneas C4 (33.7 L/kg consumo de MS) en comparación con los alimentados con C3 (30 L/kg consumo de MS). Sin embargo el alto perfil metanogénico que también obtuvo la cebada, planta C3 de clima templado, pueden atribuirse a que los cambios del potencial metanogénico de los pastos se relacionan en mayor medida a diferencias en la tasa de degradación (Muetzel *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2011), composición de carbohidratos estructurales y no estructurales (Pinares-Patiño *et al.*, 2008), que al efecto del tipo de plantas C3 o C4 (Klevenhusen *et al.*, 2009).

La baja producción de metano en la *L. esculenta* concuerda con estudios donde las leguminosas como la *Desmanthus virgatus* y *Alysicarpus rugosus* cultivadas en clima templado fueron las que tuvieron menor proporción de metano (30.1 L/kg consumo de MS) en los animales alimentados por ellas, similar a las emisiones por gramíneas C3 en el mismo estudio (Archimède *et al.*, 2011). A si mismo concuerda con resultados *in vitro*, que muestran que la reducción en la producción de CH₄ de las leguminosas respecto a las gramíneas, fue acompañada por efectos negativos sobre la digestibilidad de las leguminosas (Hess *et al.*, 2003; Grainger *et al.*, 2007; Tiemann *et al.*, 2008). Esto acompañado a su perfil de metabolitos secundarios, ya que estudios de leguminosas donde se incluye la Alfalfa y la *L. leucocephala*, se observa como sus concentraciones de estos taninos y saponinas alteran la metanogenesis ruminal (Waghorn *et al.*, 2006; Jouany y Morgavi, 2007), debido principalmente a la defaunación selectiva de microorganismos metanogenos en el rumen o de bacterias celulolíticas (Hess *et al.*, 2003). Que aunque en el presente estudio no se analizaron los metabolitos secundarios, la producción de gas y digestibilidad, pueden sugerir la toxicidad de dichos forrajes.

Sin embargo, el comportamiento similar que se observa en los demás forrajes ($P>0.005$); independiente del tipo de clima donde se desarrollen o si son gramíneas o leguminosas, podría deberse por una parte a que el sistema de fijación de carbono por fotosíntesis C4 en repetidas ocasiones evolucionan a partir de C3, para hacer más eficiente el aprovechamiento de niveles de CO₂ ambientales y temperaturas elevada; sugiriendo una creciente adaptación a los cambios climáticos de plantas C3 creciendo en climas tropicales desarrollándose con la limitación de recursos, el cual es un factor un precursor de cambio en todos los dominios de la vida (Heckmann *et al.*, 2013).

C) Digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca

La alta digestibilidad del ebo (*Vicia sativa*) no se vio reflejada en la producción de gas, lo que puede deberse a un alto contenido de proteína cruda (PC) que pudiera caracterizar esta especie forrajera, la cual al originar amonio provoca un desequilibrio en el carbonato, neutralizando los iones H⁺ de los AGV, limitando la liberación de CO₂; lo cual se relaciona con una menor producción gas durante la fermentación, aunque la leguminosa fuera altamente digestible (Cone y Van Gelder, 1999).

La digestibilidad de la avena y la cebada concuerdan con el principio de la técnica utilizada, que se refiere a que la cantidad de gas liberada, cuando una muestra de alimento es incubada *in vitro* con líquido ruminal, es directamente proporcional con la digestibilidad o la degradación del substrato de la muestra y por lo tanto con el valor energético del alimento (Menke *et al.*, 1979; Menke y Steingass, 1988; Blümmel y Ørskov, 1993; Krishnamoorthy *et al.*, 1995).

El %DIVMS del *P. clandestinum*, *C. plectostachyus*, *P. maximum*, *P. purpureum*, *A. gayanus*, *L. leucocephala*, *Vicia sativa* y *Medicago sativa*, indican elevada disponibilidad de nutrientes para los microorganismos ruminantes, los bajos valores pueden ser el resultado de mayores cantidades de FDN, cuyos componentes químicos pueden reducir la velocidad de fermentación de los sustratos. La FDN, de hojas de arbustos y árboles de las regiones tropicales pueden ser responsables de la baja producción de gas *in vitro* (Rodríguez *et al.*, 2009; Tan, 2011).

VIII. CONCLUSIONES

Las gramíneas de la región templada avena y cebada fueron las especies que se comportaron con el mayor potencial forrajero *in vitro*, por la producción de gas y digestibilidad.

A excepción del ebo, las leguminosas presentaron un menor potencial forrajero *in vitro* con una baja producción de gas, digestibilidad y potencial metanogénico respecto a todas las gramíneas del estudio.

El pasto Tanzania del trópico mostro la mayor producción de metano, seguido por la cebada. Los demás forrajes tuvieron un comportamiento similar entre ellos.

L. esculenta fue el forraje con menor producción de gas, baja digestibilidad y potencial metanogénico.

IX. SUGERENCIAS

Los resultados de evaluación de forrajes por medio de la técnica producción de gas y digestibilidad *in vitro* se asemejan a otros estudios *in vivo*, por lo que su aplicación puede asegurar datos certeros para el entorno de la producción animal de rumiantes.

Los datos aquí presentes pueden incluirse en modelos de estimación de producción de metano por rumiantes para que se tenga un panorama apegado a las situaciones reales de la producción de ganado rumiante en el campo mexicano.

Los valores de la *L. esculenta* demuestran que se puede utilizar como alternativa para la mitigación de metano en rumiantes, sin embargo se requieren pruebas de toxicidad y estudios bromatológicos.

X. BIBLIOGRAFIA

- Abdalla AL, Bueno ICS, Peçanha MRSR, Longo C, Godoy PB, Sallam SMA, Castilho LA, (2007). *In vivo* methane determination in a small chamber system. Process Greenhouse Gases. Animal Agriculture Conference (GGAAC). New Zealand. pp.18.
- Aguado GASQ, Rascón CJL, Pons HO, Grageda CE, García M, (2004). Manejo biotecnológico de gramíneas forrajeras. Técnica Pecuaria de México 42:261-2762.
- Archimède H, Eugène M, Magdeleine MC, Boval M, Martin C, Morgavi DP, Lecomte P, Doreau M, (2011). Comparison of methane production between C3 and C4 grasses and legumes. Animal Feed Science Technology 166–167:59–64.
- Argel PJ, (2005). Contribución de los forrajes mejorados a la productividad ganadera en sistemas doble propósito. *In* Memorias de la XIX Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA). Tampico, Mexico. pp.42-49
- Attwood G, McSweeney C, (2008). Methanogen genomics to discover targets for methane mitigation technologies and options for alternative H₂ utilization in the rumen. Australian Journal Experimental Agriculture 48:28-37.
- Badger MR, Price D, (1994). The Role of Carbonic Anhydrase in Photosynthesis. Annual Review Plant Physiology. Plant Molecular Biology 45:369-392.
- Baldwin RL, Allison MJ, (1983). Rumen metabolism. Journal Animal Science 57: 461-477.
- Baldwin RL, Lucas HL, Cabrera R, (1970). *In* Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant (A.T. Phillipson Editor.) Newcastle Upon Tyne: Oriel Press. pp. 319.
- Bauchart D, (1993). Lipid absorption and transport in ruminants. Journal Dairy Science 76: 3864-3881.
- Beauchemin KA, Kreuzer M, O'mara F, McAllister TA, (2008). Nutritional management for enteric methane abatement: a review. Australia Journal Experiment Agriculture 48: 21-27.
- Bergman EN, (1990). Energy contribution of VFA from the gastrointestinal tract in various species. Physiology Review 70:567–590.
- Bhatta R, Uyeno Y, Tajima K, Takenaka A, Yabumoto Y, Nonaka I, Enishi O, Kurihara M, (2009). Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. Journal of Dairy Science 92:5512-5522.

Blümmel M, Ørskov ER, (1993). Comparison of in vitro and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. Animal Feed Science and Technology 40:109–119.

Blümmel M, Becker K, (1997). The degradability characteristics of fifty four roughages and roughage neutral-detergent fibers as described by in vitro gas production and their relationship to voluntary feed intake. British Journal of Nutrition 77:757-768.

Boadi D, Benchaar C, Chiquette J, Massé D, (2004). Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: Update review. Canadian Journal of Animal Science 84(3):1918-1825.

Bogda AV, (1997). Pastos tropicales y plantas de forraje. AGT Editor, S.A., Mexico, D.F. pp.1-26,287-300.

Cassida KA, Turner KE, Foster JG, Hesterman OB, (2007). Comparison of detergent fiber analysis methods for forages high in pectin. Animal Feed Science and Technology 135:283–295.

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), (2000). Annual Report 2000. Project IP. Tropical grasses and Legumes. Optimizing genetic diversity for multipurpose use. CIAT, Cali. pp.110-112

Chesson A, Forsberg CW, (1997). Polysaccharide degradation by the rumen microorganisms. *The Rumen Microbial Ecosystem*, 2nd ed. HobsonPN & StewartCS, eds. Chapman & Hall, New York. pp.329–381.

Church DC, (1988). The ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition Englenwood Cliffs. Nj. Prentice Hall. pp.1-13.

Church DC, Pond WG, Pond KR, (2003). Fundamentos de Nutrición y alimentación de Animales. Limusa Wiley. pp.1-15, 30-50.

Clark H, Pinares-Patiño C, De Klein C, (2005). Methane and nitrous oxide emissions from grazed grasslands. In: Grassland: A global Resource. Ed: McGilloway DA. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands. pp.279-293.

Coen JA, Dehority BA, (1970). Degradation and utilization of hemicelluloses from intact forage by pure culture of rumen bacteria. Applied Microbiology 20:362-368.

Cone JW, Van Gelder AH, (1999). Influence of protein fermentation on gas production profiles. Animal Feed Science and Technology 76:251–264

Cooper JP, Tainton NM, (1968). Light and temperature requirements for growth of tropical and temperate grasses. Herbage abstract 38:167-176.

Cortés JE, Moreno B, Pabón ML, Avila P, Kreuzer M, Hess HD, Carulla JE, (2009). Effects of purified condensed tannins extracted from Calliandra, Flemingia and Leucaena on ruminal and posruminal degradation of soybean meal as estimated in vitro. *Animal Feed Science and Technology* 151:194-204.

Cottle DJ, Nolan JV, Wiedemann SG, (2011). Ruminant enteric methane mitigation: a review. *Animal Production Science* 51:491-514.

Coughlan MP, (1991). Mechanisms of cellulose degradation by fungi and bacteria. *Animal Feed Science and Technology* 32:77.

Czerkawsky JW, (1986). An introduction to Rumen Studies, M.C. Pergamon Press, Ltd. Great Britain. pp.236

De Boever JL, Cottyn BG, Buysse FX, Wainman FW, Vanacker JM, (1986). The use of an enzymatic technique to predict digestibility, metabolisable and net energy of compound feedstuffs for ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 14:203-214.

De Klein CAM, Pinares-Patino C, Waghorn GC, (2008). Greenhouse gas emissions. In: environmental impacts of pasture-based farming. Edited by Richard W. McDowell. CAB international publishing, London. U.K. 2:11-12.

Demeyer D, Doreau D, (1999). Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proceedings of the Nutrition Society* 58:593-607

Demeyer D, Fievez V, (2000). Ruminants at environment: la méthanolégenèse (Ruminants and environment: methanogenesis). *Annals Zootech* 49:95-112.

Doreau M, Ferlay A, (1995). Effect of dietary lipids on nitrogen metabolism in the rumen: a review. *Livestock Production Science* 43:97-110.

Eastridge ML, (2006). Major advances in applied dairy cattle nutrition. *Journal of Dairy Science* 89:1311-1323.

Eng J, McCormack A, Yates J, (1994). An approach to correlate tandem mass spectral data of peptides with aminoacid sequences in a protein database. *Journal of the American Society of Mass Spectrometry* 5:976-989

Faría JM, (2006). Estrategias de alimentación con pastos y cultivos forrajeros. In Memorias del XII Congreso Venezolano Producción e Industria Animal. AVPA-INIA-UCV, Maracay. pp.235-238.

Farm Animal Industrial Platform (FAIP), (2003). The economic value of livestock production in the EU 2003. Farm Animal Industrial Platform. AnNe Publishers, ISBN 90-76642-19-2.

Food and Agriculture Organization (FAO), (2006). Animal Feed Resources Information System 2006. (En línea) <http://www.fao.org/ag/AGA/AGAP/FRG/AFRIS/Data.> (Consultado el 10 de Mayo de 2014)

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), (2012). México: El sector agropecuario ante el desafío del cambio climático. (En línea)

<http://www.sagarpa.gob.mx/programas2/evaluacionesExternas/Lists/Otros%20Estudios/Attachments/37/Cambio%20Climatico.pdf> (Consultado el 22 de Noviembre del 2014).

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2012. *Global Forest Land-use Change 1990–2005.* Rome. (En línea): <http://www.fao.org/docrep/017/i3110e/i3110e00.htm>. (Consultado el 10 de Mayo del 2014).

Forrest WW, Walker DJ, (1971). Advances in microbial physiology 1° Edición Academic Press New York 5:213-274.

Gerber P, Vellinga T, Opio C, Steinfeld H, (2011). Productivity gains and greenhouse gas emissions intensity in dairy systems. *Livestock Science* 139:100–102.

Getachew GEJ, De Peters PH, Robinson, Fadel JG, (2005). Use of an *in vitro* rumen gas production technique to evaluate microbial fermentation of ruminant feeds and its impact on fermentation products. *Animal Feed Science and Technology* 123-124:547-559.

Goering HK, Van Soest PJ, (1970). Forage Fiber Analysis. Agricultural Handbook. Agricultural Research Service, US. Department of Agriculture. Washington, DC. pp. 379.

Grainger C, Clarke T, McGinn SM, Auldist MJ, Beauchemin KA, Hannah GC, Waghorn GC, (2007). Methane emissions from dairy cows measured using the sulfur hexafluoride (SF6) tracer and chamber techniques. *Journal Dairy Science* 90:2755-2766.

Hackmann TJ, Spain JN, (2010). Invited review: Ruminant ecology and evolution: Perspectives useful to ruminant livestock research and production. *Journal of Dairy Science* 93:1320–1334.

Hall MB, (2003). Challenges with nonfiber carbohydrate methods. *Journal of Animal Science* 81:3226–3232.

Heckmann D, Schulze S, Denton A, Gowik U, Westhoff P, Weber AP, (2013). Predicting C4 photosynthesis evolution: modular, individually adaptive steps on a Mount Fuji fitness landscape 153(7):1579-88.

Hegarty RS, (1999). Reducing rumen methane emissions through elimination of rumen protozoa. Australian Journal of Agricultural Research 50:1321-1327.

Hess HD, Monsalve LM, Lascano CE, Carulla JE, Díaz TE, Kreuzer M, (2003). Supplementation of a tropical grass diet with forage legumes and *Sapindus saponaria* fruits: effects on in vitro ruminal nitrogen turnover and methanogenesis. Australian Journal Agriculture Research 54:703-713.

Hobson PN, (1989). The rumen microbial eco-system. Elsevier Applied Science, London. pp.343-359.

Houghton RA, (2008). Improved estimates of net carbon emissions from land cover change in the tropics for the 1990s. In *TRENDS: A Compendium of Data on Global Change*. Carbon Dioxide Information Analysis Center, Oak Ridge National Laboratory, U.S. Department of Energy, Oak Ridge, TN, US. (En línea) <http://cdiac.ornl.gov/trends/landuse/houghton.html>. (Consultado el 10 de Abril del 2014)

Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC), (2006). Inventario Nacional de Emisiones de Gases de Efecto Invernadero 1990-2002, México. Resumen Ejecutivo. Eco Securities Group plc, Mercado de Carbono en México. Inventario de Emisiones, México.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), (2007). Censo Agropecuario 2007. Características del sector agropecuario y forestal en Michoacán de Ocampo. (En línea) http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/censos/agropecuario/2007/agro_forestal/mich/CSAgroForCA.pdf (Consultado el 14 de Octubre de 2014)

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), (2009). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Morelia, Michoacan de Ocampo. Clave estadística 16053.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2014). PIB y Cuentas Nacionales. PIB - Actividad de los Bienes y Servicios, anual. Producto Interno Bruto a precios de 2008, por sector de actividad económica. (En línea). <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/cn/bs/> (Consultado el 10 de Diciembre del 2014).

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). (2013). Climate change 2013: The Physical Science Basis. Contribution Of Working Group I To The Fifth

Assessment Report Of The Intergovernmental Panel On Climate Change, Summary For Policymakers at Figure SPM 5:12.

International Energy Agency (IEA). (2012). *World Energy Outlook 2012*. Paris. (En línea) <http://www.worldenergyoutlook.org/publications/weo-2012/>. (Consultado el 10 de Diciembre del 2014).

Jakhmola RC, Pahuja T, Raghuvansi SKS, (2010). Feeding strategies to reduce enteric methane production in ruminants: a review. Indian Journal Small Ruminants 16: 1-17

Jarrell KF, Bayley DP, Correia JD, Thomas NA, (1999). Recent excitement about Archaea. Bioscience 49(7):530-541.

Johnson KA, Johnson DE, (1995). Methane emissions from cattle. Journal of Animal Science 73:2483–2492.

Jouany JP, Morgavi DP, (2007). Use of ‘natural’ products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. Animal 1:1443-1466.

Juárez A.R.; Cerrillo M.S.; Gutierrez E.O; Romero E.T.; Colin J.N.; Bernal, H.B. (2009). Estimación del valor nutricional de pastos tropicales a partir de análisis convencionales y de la producción de gas *in vitro*. Técnica Pecuaria en Mexico 47 (1):55-67

Juárez FIL, Contreras JLJ, Montero ML, (2001). Tasa de cambios con relación a edad en rendimiento, composición química y digestibilidad de cinco pastos tropicales. Decima cuarta reunión científica. Tecnológica forestal y agropecuaria, Veracruz. pp.1-8.

Judkins MB, Krysl LJ, Barton RK, (1990). Estimating diet digestibility: a comparison of 11 techniques across six different diets fed to rams. Journal of Animal Science 68:1405-1415.

Kajikawa H, Valdes C, Hillman K, Wallace RJ, Newbold CJ, (2003). Methane oxidation and its coupled electron-sink reactions in ruminal fluid. Letters in Applied Microbiology 36:354-357.

Kamra DN, (2005). Rumen microbial ecosystem. Current Science 89:124-135.

Kamra ND, Agarwal N, Chaudhary LC, (2010). Effect of tropical feeds and plants containing secondary metabolites on methane emission by ruminants. Tropical Animal Health Proceedings 1701:1-23.

Kelly JM, Kerrigan B, Milligan LP, McBridge WM, (1994). Development of a mobile, open-circuit indirect calorimetry system. Canadian Journal of Animal Science 74:65-71.

Klass DL, (1984). Methane from anaerobic fermentation. *Science* 223(4640):1021-1028.

Klevenhusen F, Bernasconi SM, Hofstetter T, Bolotin J, Kunz C, Soliva CR, (2009). Efficiency of monolaurin in mitigating ruminal methanogenesis and modifying Cisotope fractionation when incubating diets of either C3 or C4 plants in a rumen simulation technique (Rusitec) system. *British Journal of Nutrition* 8(6): 1-11.

Koenig KM, Beauchemin KA, Rode LM, (2003). Effect of grain processing and silage on microbial protein synthesis and nutrient digestibility in beef cattle fed barley-based diets. *Journal Animal Science* 81:1057-1067.

Kong Y, Xia YR, Seviour R, Forster TA, McAllister, (2013). Biodiversity and composition of methanogenic populations in the rumen of cows fed alfalfa hay or triticale Straw *FEMS Microbiology Ecology* 84:302-31.

Krishnamoorthy U, Soller H, Steingass H, Menke KH, (1995). Energy and protein evaluation of tropical feedstuffs for whole tract and ruminal digestion by chemical analyses and rumen inoculum studies in vitro. *Animal Feed Science and Technology* 52 (3-4):177-188.

Lin C, Miller TL, (1998). Phylogenetic analysis of *Methanobrevibacter* isolated from feces of humans and other animals. *Archives of Microbiology* 169:397-403.

Martínez J, Fernández AB, Osnaya P, (2004). Cambio climático: una visión desde México. México, D.F. (En línea) http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/consultaPublicacion.html?id_pub=437&id_tema=1&dir=Consultas (Consultado el 10 de Enero de 2014).

Martínez ALM, Pérez MH, Pérez LA, Gómez GC, Carrión DP, (2011). Efecto de las fuentes de grasa sobre la digestión de la fibra en los rumiantes. Veterinaria Organización, España. *Revista Electrónica de Veterinaria* 12(7):1-21.

McAllister TA, Okine EK, Mathison GW, Cheng KJ, (1996). Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science* 76:231-243.

McCarty L, (1982). One hundred years of anaerobic treatment. *In Proceedings of the Second International Symposium on Anaerobic Digestion*, Federal Republic of Germany. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam. pp.200-220.

McCrabb GJ, Hunter RA, (1999). Prediction of methane emissions from beef cattle in tropical production systems. *Australian Journal of Agricultural Research* 50:1335-1339.

McLean JA, (1972). On the calculation of heat production from open circuit calorimetric measurements. *British Journal of Nutrition* 27:597-600.

Mehrez AZ, Ørskov ER, (1977). A study of artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *Journal of Agricultural Science* 88:645-650.

Menke KH, Steingass H, (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development* 28:7-55.

Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W, (1979). The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. *Journal of Agricultural Science* 93:217-222.

Mieres J, Olivera L, Martino D, La Manna A, Fernández E, Palermo R, Gremminger H, (2002). Methane emissions from holstein heifers grazing contrasting pastures in Uruguay. *Tesis de Magister en Producción Animal*. Bogotá, Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Departamento Producción Animal, Universidad Nacional de Colombia. pp.1-15.

Moe PW, Tyrrell HF, (1979). Methane production in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 62:1583-1586.

Morcillo R, (1981). Espectroscopia Infrarroja. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. pp.1-3

Moreno ARS, Urbina JS, (2008). Impactos sociales del cambio climático en México. Instituto Nacional de Ecología (INE), Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD).

Moss AR, Jouany JP, Newbold J, (2000). Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annals Zootechnique* 49:231-253.

Mould FL, Morgan R, Kliem KE, Krysstallidou E, (2005). A review and simplification of the in vitro incubation medium. *Animal Feed Science and Technology* 123-124:155-172.

Muetzel S, Knight TW, Hoskin SO, Molano G, Maclean S, Silva-Villacorta D, Clark H, (2009). Level of intake and physiological state influences methane emissions from sheep fed fresh pasture. In Chilliard Y, Glasser F, Faulconnier Y, Bocquier F, Vissier, I, Doreau M (ed). *Ruminant physiology, digestion metabolism and effects of nutrition on reproduction and welfare. Proceedings of the XI International Symposium on Ruminant Physiology*.

Mukhopadhyay B, Purwantini E, Pihl TD, Reeve JN, Daniels L, (1995). Cloning, sequencing, and transcriptional analysis of the coenzyme Fa,,, -dependent methylene-5,6,7,8-tetrahydromethanopterin dehydrogenase gene from *Methanobacterium thermoautotrophicum* strain Marburg and functional expression in *Escherichiu coli*. *Journal biology Chemistry* 270:2827-2832.

Nava CC, Díaz AC, (2001). Introducción a la digestión ruminal. Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM. (En línea) www.produccion-animal.com.ar (Consultado 14 de Agosto del 2014).

Nherera FV, Ndlovu LR, Dzowela BH, (1999). Relationships between in vitro gas production characteristics, chemical composition and in vivo quality measures in goats fed tree fodder supplements. *Small Ruminant Research* 31:117-126.

Niwińska B, (2012). Digestion in ruminants. Chapter 11. (En línea) <http://dx.doi.org/10.5772/51574> (Consultado el 2 de Junio del 2014).

Nocek JE, Russell JB, (1988). Protein and energy as an integrated system: Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *Journal of Dairy Science* 71:2070–2107.

Nowak RM, (1999). *Walker's Mammals of the World*. Vol 2. 6th ed. John Hopkins Univ. Press, Baltimore, MD. pp.1-7.

Organización de las Naciones Unidas (ONU), (1998). Protocolo Kyoto de la Convención Marco de Las Naciones Unidas sobre el cambio climático. Naciones Unidas.

Pachauri RK, Reisinger A, Core Writing Team, (2007). Climate Change 2007: Synthesis Report. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Génova, Suiza. (En línea) http://www.ipcc.ch/publications_and_data/publications_ipcc_fourth_assessment_report_synthesis_report.htm (Consultado el 18 de Agosto del 2014)

Patra AK, Saxena J, (2010). A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in ruminants. *Phytochemistry* 71: 1198-1222.

Patton RA, Heimbeck W, Stevenson MJ, Brinkman RJ, (2006). Aminocow 3.5. Nittary Dairy Nutrition Inc. Mifflinburg, PA, USA.

Pérez JP, Alarcón BZ, Mendoza GDM, Barcena RG, Hernández AG, Herrera JGH, (2001). Efecto de un banco de proteína de kudzu en la ganancia de peso de toretes en pastoreo de estrella africana. *Técnica Pecuaria en México* 39:39-52.

Pinares-Patiño CS, Holmes CW, Lassey KR, Ulyatt MJ, (2008). Measurement of methane emission from sheep by the sulphur hexafluoride tracer technique and by the calorimetric chamber: failure and success. Animal 2(1):141-148

Posada SL, Noguera RR, (2005). Técnica *in vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. Livestock Research Rural Development. (En línea) <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd17/4/posa17036.htm>. (consultado el 3 de Junio 2014)

Poulsen M, Schwab C, Jensen BB, Engberg RM, Spang A, Canibe N, Højberg O, Milinovich G, Fragner L, Schleper C, Weckwerth W, Lund P, Schramm A, Urich T, (2013). Methylotrophic methanogenic Thermoplasmata implicated in reduced methane emissions from bovine rumen. Nature Commission 4:1428

Rea S, Bowman JP, Popovski S, Pimm C, Wright ADG, (2007). *Methanobrevibacter millerae* sp. nov. and *Methanobrevibacter olleyae* sp. nov., methanogens from the ovine and bovine rumen that can utilize formate for growth. International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology 57:450-456.

Reeves III JB, 2000. Use of Near Infrared Reflectance Spectroscopy. In D'Mello JPF, Farm Animal Metabolism and Nutrition. CABI Publishing, UK. pp.184-209

Reid JT, (1970). Physiology of digestion and metabolism in the rumiant. Oriel Press 1:8-9.

Rodríguez R, Fondevila M, Castrillo C, (2009). *In vitro* ruminal fermentation of *Pennisetum purpureum* CT-115 supplemented with four tropical browse legume species. Animal Feed Science and Technology 151:65-74

Salem AZM, ZHOU Chuan-she, TAN Zhi-liang, Mellado M, Moises Cipriano MS, Mona MM, Elghandopur Y, Odongo NE, (2013). *In vitro* Ruminal Gas Production Kinetics of Four Fodder Trees Ensiled With or Without Molasses and Urea. Journal of Integrative Agriculture 12(7):1234-1242.

Salisbury, FB, Ross CW, (2000). Fisiología de las plantas 2. Bioquímica vegetal. Ed: Thomson Editores Spain. Traducción Alonso, JM. Madrid, España. pp.359-374.

Santoso B, Hariadi BT, (2009). Evaluation of nutritive value and *in vitro* methane production of feed stuffs from agricultural and food industry by-products. Journal Indonesia Tropical Animal Agriculture 34:189–195.

Sauvant D, Giger-Reverdin S, (2009). Modélisation des interactions digestives et de la production de méthane. INRA Production Animal 22:375–384.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2007). Programa Nacional Pecuario 2007-2012. Mexico, D.F. pp.4-11, 18-37.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2008) Mexico's Profile for Livestock Waste Management. Presented in the Methane to Markets, Agriculture Subcommittee. (En línea) http://www.globalmethane.org/documents/ag_cap_mexico.pdf (Consultado el 10 de marzo de 2014).

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2014). Estrategia Nacional de Cambio Climático, visión 10-20-40. Gobierno de la república. (En línea) http://www.inmujeres.gob.mx/inmujeres/images/stories/medioambiente/2014/09_SEPTIEMBRE/estrategia_nacional_cambio_climatico.pdf (Consultado el 10 de enero de 2015).

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2013). Resumen Nacional Producción, Precio, Valor, Animales Sacrificados Y Peso 2013 (En línea). http://www_siap.gob.mx/resumen-nacional-pecuario/ (Consultado el 10 de diciembre del 2014).

Sharma RK, (2005) Nutritional strategies for reducing methane production by ruminants. Indian Journal Resource 4(1).

Singh S, Kushwaha BP, Nag SK, Mishra AK, Singh A, Anele UY, (2012). *In vitro* ruminal fermentation, protein and carbohydrate fractionation, methane production and prediction of twelve commonly used Indian green forages. Animal Feed Science and Technology 178:2–11.

Habel RE, (1982) Sistema digestivo de los rumiantes. En Sisson y Grosman. Anatomía de los animales domésticos. Tomo I. X edición. Mc Graw Hill. pp.957-1016.

Statgraphics Centurion XVI, (2012). Statpoint Technologies Inc.

Steinfeld H, Gerber P, Wassenaar T, Castel V, Rosales M, De Haan C, (2009). La larga sombra del Ganado. Problemas ambientales y opciones. LEAD-FAO. Roma, Italia. pp. 464.

Stewart CS, Flint HJ, Bryant MP, (1997). The rumen bacteria. In Hobson PN (ed.), *The rumen microbial ecosystem*. Elsevier Application Science New York. pp.10–72.

Sun XZ, Hoskin SO, Zhang GG, Molano G, Muetzel S, Pinares-Patiño CS, Clark H, Pacheco D, (2011). Sheep fed forage chicory (*Cichorium intybus*) or perennial ryegrass (*Lolium perenne*) have similar methane emissions. Animal Feed Science and Technology 172:217-225.

Tan HY, Sieo CC, Abdullah N, Lian JB, Huang XD, Ho YW, (2011). Effects of condensed tannins from Leucaena on methane production, rumen fermentation and populations of methanogens and protozoa *in vitro*. Animal Feed Science and Technology 169:185–193.

Theodoridou K, Aufrere J, Andueza D, Pourrat J, Le Morvan A, Stringano E, Muelle-Harvey I, Baumont R, (2010). Effects of condensed tannins in fresh sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on *in vivo* and *in situ* digestion in sheep. Animal Feed Science and Technology 159:122-130.

Theodorou KM, Williams AB, Dahona SM, McAllan BA, France J, (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology 48:185-197.

Tiemann TT, Avila P, Ramírez G, Lascano CE, Kreuzer M, Hess HD, (2008). *In vitro* ruminal fermentation of tanniferous tropical plants: Plant-specific tannin effects and counteracting efficiency of PEG. Animal Feed Science and Technology 146:222-241.

Tilley JMA, Terry RA, (1963). A two-stage technique for the digestion of forage crops. Journal British Grasslands Society 18:104–111.

Tsuda T, Sasaki Y, Kawashime K, (1991). Physiological aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants. Proceedings of the Seventh International Symposium on Ruminant Physiology. San Diego, California, EUA.

United Nations Environment Programme (UNEP). (2012). *The Emissions Gap Report 2012*. Nairobi, Kenya. (En línea) <http://www.unep.org/publications/ebooks/emissionsgap2012/> (Consultado el 10 de marzo del 2014).

US Energy Information Administration (EIA), (2012). *Annual Energy Outlook 2012–with Projections to 2035*. Washington, DC. (En línea) <http://www.eia.gov/forecasts/archive/aoe12/> (Consultado el 10 de marzo del 2014).

Van Soest PJ, (1994). Nutritional ecology of the ruminant. 2nd. ed. Cornell University Press. Ithaca, NY. pp.476.

Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA, (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74:3583-3597.

Waghorn GC, Hegarty RS, (2011). Lowering ruminant methane emissions through improved feed conversion efficiency. Animal Feed Science and Technology 166-167:291-301.

Waghorn GC, Woodward SL, Tavendale M, Clark DA, (2006). Inconsistencies in rumen methane production— effects of forage composition and animal genotype. International Congress Series 1293:115– 118.

Walker ND, (2010). Nutrient requirements and metabolism of rumen microorganisms. (En linea) http://www.rumenhealth.com/PDF/Walker_Nutrient_Requirements_Metabolism.pdf (Consultado el 22 de julio del 2014).

Woese CR, Kandler O, Wheelis ML, Towards, (1990). A natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. Proceedings of the National Academy of Science 87:4576-4579.

Wright ADG, Auckland CH, Lynn DH, (2007). Molecular diversity of methanogens in feedlot cattle from Ontario and Prince Edward Island, Canada. Applied and Environmental Microbiology 73:4206-4210.

Wright ADG, Toovey AF, Pimm CL, (2006). Molecular identification of methanogenic archaea from sheep in Queensland, Australia, reveal more uncultured novel archaea. Anaerobe 12:134-139.

Yan T, Agnew RE, (2004). Prediction of nutritive value in grass silages: I. Nutrient digestibility and energy concentration using nutrient composition and fermentation characteristics. Journal of Animal Science 82:367-1379.

Zellner G, Alten C, Stackebrandt E, Conway De Macario E, Winter J, (1987). Isolation and characterization of *Methanocorpusculum parvum* gen. nov., spec. nov., a new tungsten requiring, coccoid methanogen. Archives of Microbiology 147:13-20.

XI. GLOSARIO

Arbóreas.- Es una caracterización física, que por su configuración se asemeja o recuerda a un árbol, en el sentido que sus ramificaciones tienden a converger en un *origen* o *raíz*.

Arbustivas.- Una planta leñosa de cierto porte cuando, a diferencia de lo que es propio de un árbol, no se yergue sobre un solo tronco o fuste, sino que se ramifica desde la misma base.

Biohidrogenación ruminal.- Es el mecanismo mediante el cual los microorganismos ruminantes saturan los AG insaturados C18 hasta esteárico, aumentando de esta manera la cantidad de AG saturados que llega al intestino. La biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados, es un mecanismo para reducir la toxicidad de los mismos para las bacterias, ya que por sus características poseen una acción detergente para la membrana celular microbiana.

Biopeliculas.- Son comunidades microbianas complejas que contienen bacterias, puede describirse como un conjunto de bacterias incrustadas.

Cambio climático.- Es un cambio significativo y duradero de los patrones locales o globales del clima, las causas pueden ser naturales, como por ejemplo, variaciones en la energía que se recibe del Sol, erupciones volcánicas, circulación oceánica, procesos biológicos y otros, o puede ser causada por influencia antrópica (por las actividades humanas).

Carboxilo.- Es un grupo funcional característico unido a un resto orgánico R, se representa como COOH y tambieon se denomina grupo carboxilo, grupo carboxi, tiene propiedades ácidas.

Chloridoides.- Se trata de plantas herbáceas, con hojas provistas de pelos globosos y lígula pilosa. Presentan a menudo espiguillas comprimidas lateralmente y reunidas en racimos subespiciformes y unilaterales, con una o numerosas flores,

cada una de ellas generalmente con dos lodículas carnosas, tres estambres y dos estigmas.

Daltons (Da).- Es unidad de masa atómica unificada empleada en física y química, especialmente en la medida de masas atómicas y moleculares. Se define como la doceava parte (1/12) de la masa de un átomo neutro y no enlazado de carbono-12, en su estado fundamental eléctrico y nuclear, y su valor recomendado es el de $1,660\ 538\ 921\ (73) \times 10^{-27}\ \text{kg}$.

Desorción.- Es la operación inversa a la absorción • Es la operación unitaria en la cual uno o mas componentes del líquido se transfieren al gas. • También puede conseguirse aumentando la temperatura.

Digestibilidad real.- Es superior al de la aparente ya que descuenta las pérdidas por productos metabólicos como descamaciones epiteliales del tubo digestivo, enzimas y jugos digestivos.

Diglicéridos.- Son grasas producidas a partir de glicerol y de ácidos grasos naturales, que normalmente son de origen vegetal pero también pueden ser de origen animal. Se conforma por dos moléculas de ácido graso unidas a una molécula de glicerol. Debido a que contienen glicerol, son sustancias hidrosolubles.

Dihidrógeno.- Es una molécula diatómica compuesta por dos átomos de hidrógeno; a temperatura ambiente es un gas inflamable, incoloro e inodoro.

Energía bruta.- Es el calor desprendido en la oxidación completa de una substancia y su valor depende del grado de oxidación de sus componentes.

Entodiniomorfos.- Clasificación zoológica del suborden de protozoarios ciliados del orden espirotricos. Tienen el cuerpo de sección circular y sólo contienen unos pocos cilios en la zona de la boca.

Espectroscopia.- Es una técnica instrumental ampliamente utilizada por los físicos y químicos para poder determinar la composición cualitativa y cuantitativa de una muestra, mediante la utilización de patrones o espectros conocidos de otras

muestras. El análisis espectral permite detectar la absorción o emisión de radiación electromagnética de ciertas energías, y relacionar estas energías con los niveles de energía implicados en una transición cuántica.

Estequiométricas.- (Del griego *στοιχειον*, *stoicheion*, 'elemento' y *μετρον*, *métrón*, 'medida') es el cálculo de las relaciones cuantitativas entre los reactivos y productos en el transcurso de una reacción química.

Esterificados.- Es el proceso por el cual se sintetiza un éster. Un éster es un compuesto derivado formalmente de la reacción química entre un ácido carboxílico y un alcohol.

Esteroides.- Son sustancias que pueden convertirse en testosterona o un compuesto similar.

Flavonoides.- (Del latín *flavus*, "amarillo") es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas. Son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA, a través de lo que se conoce como "vía biosintética de los flavonoides", cuyo producto, la estructura base, se cicla gracias a una enzima isomerasa. La estructura base, un esqueleto C6-C3-C6.

Enlaces Glicosídicos.- Los disacáridos pueden seguir uniéndose a otros monosacáridos por medio de enlaces **glicosídicos**. Así se forman los trisacáridos, tetrasacáridos.

Forrajes.- Hierba (planta y órganos vegetales) que se dan al ganado para alimentarlo, ya sea seco, verde, conservado por henificado o ensilado y en cereales.

Glicósidos.- Son compuestos que al ser hidrolizados dan origen a una porción que es azúcar y otra que no lo es (aglicona o genina).

Halófilos.- Es el adjetivo que se aplica a los organismos que viven en medios con presencia de gran cantidad de sales. La palabra está formada con los

términos griegos *halos*, sal, y *filo*, amante de, por lo que literalmente significa *amante de la sal*.

Hidrolizables.- Compuestos que pueden hidrolizarse, pasar por una reacción química entre una molécula de agua y otra molécula, en la cual la molécula de agua se divide y sus átomos pasan a formar parte de otra especie química. Esta reacción es importante por el gran número de contextos en los que el agua actúa como disolvente.

Hidroxilo.- Es un grupo funcional formado por un átomo de oxígeno y otro de hidrógeno, característico de los alcoholes, fenoles yácidos carboxílicos entre otros compuestos orgánicos.

Hipertermófilos.- Aquellos organismos que habitan a altas temperaturas, que normalmente llegan al punto de ebullición. Por lo común crecen bien y se reproducen a temperaturas mayores a 70 °C, un calor letal para la mayoría de los seres vivos.

Isoácidos.- Acidos Grasos Volatiles de cadena ramificada.

Macromoléculas.- Son moléculas que tienen una masa molecular elevada, formadas por un gran número de átomos. Generalmente se pueden describir como la repetición de una o unas pocas unidades mínimas o monómeros, formando los polímeros. El término macromolécula se refiere a las moléculas que pesan más de 10,000 daltons de masa atómica.

Metanotrófos.- Son microorganismos que puede emplear como fuente de carbono y energía el metano (Aunque también otros compuestos de carbono pequeños sin enlaces C-C). Esto significa que fabrica sus compuestos orgánicos empleando como fuente exterior compuestos pequeños de carbono, y que mediante su oxidación obtiene energía metabólica.

Micorrizas.- Define la simbiosis entre un hongo (*mycos*) y las raíces (*rhizos*) de una planta. Como en otras relaciones simbióticas, ambos participantes obtienen beneficios. (Relación hongo-organismo de Mutualismo)

Microbiota.- También conocida como *microflora* es el conjunto de microorganismos que se localizan de manera normal en distintos sitios del cuerpo animal.

Monocromática.- (Del griego *mono* (*uno*) y *chroma* (χρωμα, *superficie o color de la piel*)) tiene un solo color. En biología se refiere a los animales con un solo color o tintaje que los caracteriza, pero también a los animales de solo dos colores como monocromáticos como, por ejemplo, la cebra.

Monómeros.- (Del griego *mono*, ‘uno’, y *meros*, ‘parte’) es una molécula de pequeña masa molecular que está unida a otros monómeros, a veces cientos o miles, por medio de enlaces químicos, generalmente covalentes, forman macromoléculas llamadas polímeros.

Mucoproteinas.- Compuestos presentes en todos los tejidos conectivos y de sostén que contiene polisacáridos combinados con proteínas, y que es relativamente resistente a la desnaturalización.

Polifenólicos.- Son un grupo de sustancias químicas encontradas en plantas caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula. Los polifenoles son generalmente subdivididos en taninos hidrolizables, que son ésteres de ácido gálico de glucosa y otros azúcares; y fenilpropanoides, como la lignina, flavonoides y taninos condensados.

Potencial forrajero.- Abarca lo referente al perfil de un forraje en base a varios parámetros, mediciones y condiciones del mismo forraje o del medio donde se desarrolla como caracterización ecológica, biomasa acumulada o productividad en base a la materia seca, composición química mediante estudios bromatológicos (Fibra Neutro Detergente, Fibra Detergente Acida, lignina, Proteína Cruda, Extracto Etereo, Cenizas, entre otros), índice de preferencia o palatabilidad por los animales, valores de consumo, pruebas *in vitro* o *in vivo* de producción de gas y digestibilidad de los forrajes. En estudios científicos, los factores a estudiar varían dependiendo el alcance de los objetivos de los mismos.

Potencial forrajero *in vitro*.- Son las características que tiene un forraje en base a su producción de gas *in vitro* y de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS)

Preponderante.- Que prevalece o tiene mayor importancia.

Radiculares.- Al conjunto de raíces de una misma planta. Según su origen y desarrollo se distinguen dos tipos de sistemas radiculares, los cuales están asociados a grupos diferentes de plantas.

Reflectancia.- es un coeficiente que representa la capacidad de una superficie para reflejar la luz que proviene desde las luminarias instaladas y desde las otras superficies del local (no se consideran los aportes externos).

Respirométricas.- Cámara aireada o Cámara no-aireada con sensores de oxígeno que mandan las señales a un ordenador con generación automática de respirogramas

Tasa de pasaje.- Es el tiempo que tarda en pasar el alimento por el rúmen, esto se relaciona con el tamaño de las partículas de forraje, entre más finas sean más rápido pasan y se digieren mal, entre más grandes son tardan más en pasar y se digieren mejor.

Termofílicos.- Se aplica a organismos vivos que pueden soportar condiciones extremas de temperatura relativamente altas, por encima de los 45°C. Es un subtipo de vida extremófila. Muchos termófilos pertenecen al dominio Archaea. Estos organismos tienen una tasa de crecimiento rápida pero de corta duración

Terpenoide.- Son una vasta y diversa clase de compuestos orgánicos derivados del isopreno (o 2-metil-1,3-butadieno), un hidrocarburo de 5 átomos de carbono. El nombre proviene de que los primeros miembros de esta clase fueron derivados del aguarrás ("turpentine" en inglés, "terpentin" en alemán).

Triterpénicos.- Son compuestos químicos de tipo terpenoide presentes en las plantas de las familias Apiaceae y Pittosporaceae.

Trófica.- (Del griego *τρέφοιν*, alimentar, nutrir)¹ describe el proceso de transferencia de sustancias nutritivas a través de las diferentes especies de una comunidad biológica, en el que cada uno se alimenta del precedente y es

alimento del siguiente. También conocida como cadena alimenticia o cadena alimentaria, es la corriente de energía y nutrientes que se establece entre las distintas especies de un ecosistema en relación con su nutrición.

Ungulados.- Son un antiguo grupo de mamíferos placentarios que se apoyan y caminan con el extremo de los dedos, o desciende de un animal que lo hacía. Típicamente están revestidos de una pezuña como en la cabra

Xilanos.- Es un polisacárido constituido por una cadena lineal de residuos de xilosa y diversas ramificaciones y sustituciones. El xilano es el polisacárido más abundante después de la celulosa. La corteza de los árboles y la paja contienen hasta 30% de xilano, la madera de coníferas 7-12% y la de árboles de hojas caducas 20-25%. La cadena consta de 30-100 unidades de β -D-xilopiranosa con enlaces 1,4-glicosídicos. Algunos xilanos también presentan arabinosa, glucosa, galactosa y glucuronato en ramas laterales unidas al C3 de la xilosa.