



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

**Instituto de Investigación Agropecuarias y
Forestales**

**Programa Institucional de Maestría en Ciencias
Biológicas**

**EVALUACIÓN DE LAS ARVENSES EN LOS SISTEMAS
LECHEROS A PEQUEÑA ESCALA DE LAS LOCALIDADES DE SANTA
ANA DEL ARCO Y TÉJARO**

TESIS

Que presenta

M.V.Z. Carlos Vidal Cortés Mondragón

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Ph.D. Daniel Val Arreola

Morelia, Michoacán Agosto de 2013



DEDICATORIA

A mi familia que siempre me brinda su apoyo incondicional y confianza en todas las etapas que he cursado en mi vida.

“La unión de la familia no se mide por el número de miembros, sino por la unión que hay en ellos.”

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores, Dr. Daniel Val Arreola, Dr. Jaime Tena, Dr. Carlos Gonzáles Esquivel, MC. Antonio García Valladares y MC. Juan Pablo Flores Padilla, por compartir sus conocimientos, así como el apoyo en la elaboración de esta tesis.

A las personas que laboran en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en especial a la QFB. Ma. de la Paz Ochoa Salazar

Herbario de la Facultad de Biología de la Universidad Michoacana de san Nicolás de Hidalgo, en especial M. en C. María Alma Chávez Carbajal y Bio. Rosa Isabel Fuentes Chávez por su apoyo en la caracterización de las arvenses utilizadas para este proyecto.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la digestibilidad de las arvenses de la localidad de Santa Ana del Arco y Téjaro por medio de la técnica de producción de gas *in vitro* en las regiones de Santa Ana del Arco del municipio de Tarímbaro, se observó que los productores a pequeña escala utilizan los recursos forrajeros (arvenses) que se encuentran en los cultivos, como una práctica común al incluirlas en la alimentación del ganado lechero. Se realizó un muestreo previo a la temporada de lluvias y otro durante esta, encontrándose un total de 13 especies en cultivos de alfalfa (*Medicago sativa*), de las cuales 6 son perenes y las restantes anuales. Posteriormente las muestras se llevaron al laboratorio de alimentos de la F.M.V.Z., para realizarles un análisis Químico Proximal por especie y al laboratorio del IIAF-F.M.V.Z. Donde se determinó la digestibilidad por la técnica de producción de gas *in vitro* (DIVMS) usándose el modelo de Orskov y Mc Donald (1979) $P=a+b(1-\exp^{-c})$. Para determinar la cinética de fermentación. En el primer muestreo se obtuvieron los promedios y desviaciones estándar: Proteína Cruda (PC) 16.18% ± 2.76 , Carbohidratos no estructurales (CNE) 24.58% ± 3.06 , Fibra detergente neutra (FDN) 39.24 % ± 1.60 , Fibra detergente acida (FDA) 24.65% ± 4.06 y la especie *Picris echioides* presentó la mayor DIVMS 86.83%. Mientras que para el segundo muestreo se obtuvieron los promedios y desviaciones estándar: 17.71 PC% ± 3.32 , 17.67 CNET% ± 6.18 , 47.32 FDN% ± 9.01 , 27.93 FDA% ± 4.56 y la especie *Taraxacum officinale* obtuvo la mayor DIVMS 86.66%. Encontrándose diferencia entre muestreos. Al correlacionar los datos, la fracción soluble “a” se correlaciona con las cenizas% ($P<0.05$) y la fracción insoluble potencialmente fermentable “b” con MS%, FDN%, tasa de fermentación “c” (ml/1h) ($P<0.01$), y además con EE%, CNET% y FDA% ($P<0.05$). Se concluye que la práctica de utilizar estos recursos naturales son una buena alternativa en la complementación de la alimentación del ganado debido a su nivel de proteína y digestibilidad aceptable.

Palabras clave: Digestibilidad *in vitro*, producción de gas *in vitro*, malezas de campo, arvenses.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the digestibility of weeds from the village of Santa Ana del Arco and Tejaro through technique in vitro gas production in the regions of Santa Ana del Arco, it was observed that small-scale producers use feed resources (weeds) found in crops, as a common practice to include them in the feeding of dairy cattle. Sampling was conducted prior to the rainy season and another during this, finding a total of 13 species in alfalfa cultivation (*Medicago sativa*), of which 6 are perennial and the others annual. Subsequently the samples were brought to laboratory FMVZ foods for a Proximal Chemical analysis. In laboratory IIAF-FMVZ digestibility was determined by the technique of gas production in vitro (IVDMD) model being used Orskov and McDonald (1979) $P = a + b(1 - \exp(-c))$. For the determination of the kinetics of fermentation. In the first sampling were obtained averages and standard deviations: Crude Protein (CP) 16.18% $\pm$ 2.76, nonstructural carbohydrates (CNE) 24.58% $\pm$ 3.06, neutral detergent fiber (NDF) 39.24% $\pm$ 1.60, acid detergent fiber (FDA) 24.65% $\pm$ 4.06 and *Picris echioides* species had the highest IVDMD 86.83%. While for the second sampling were obtained averages and standard deviations: PC 17.71% $\pm$ 3.32, 17.67 $\pm$ 6.18% CNET, DOB 47.32% $\pm$ 9.01, 27.93 $\pm$ 4.56 and FDA% *Taraxacum officinale* species had the highest IVDMD 86.66%. Difference exists between sampling. By correlating the data, the soluble fraction "a" is correlated with the ash % ($P < 0.05$) and insoluble fraction potentially fermentable "b" with MS%, NDF%, fermentation rate "c" (ml/1h) ($P < 0.01$), and also with EE%% and FDA CNET% ($P < 0.05$). We conclude that the practice of using these natural resources are a good alternative in complementing animal feed because of its protein level and digestibility acceptable.

Keywords: In vitro digestibility. In vitro gas production. Field weeds.

INDICE

	Pág.
I. ÍNDICE DE FIGURAS.....	8
II. ÍNDICE DE CUADROS.	9
1 ANTECEDENTES.	10
2 LA TÉCNICA DE PRODUCCIÓN DE GAS EN LA EVALUACIÓN DE ALIMENTOS PARA RUMIANTES.	14
2.1 Bases biológicas de la producción de gas.	14
2.2 La técnica de producción de gas como técnica para la evaluación de pastos y forrajes empleados en la alimentación de rumiantes.....	16
3 LA IMPORTANCIA DE LOS RECURSOS FORRAJEROS NATURALES EN LA ALIMENTACION DE LOS RUMINATES.....	21
4 MÉTODOS PARA ESTIMAR LA DISPONIBILIDAD DE FORRAJE.	26
5 PLATEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	28
6 HIPÓTESIS.	29
7 JUSTIFICACION.....	29
8 OBJETIVOS	30
9 MATERIAL Y MÉTODOS.....	31
9.1 Entrevista con productores.	32
9.2 Recolección de muestras.	32
9.3 Técnica de digestibilidad in vitro mediante la producción de gas.....	36
9.3.1 Elaboración del Medio de Fermentación o Incubación.	37
9.3.1.1 Elaboración de Saliva Artificial.	37
9.3.1.2 Elaboración de la Solución de Microminerales, Macrominerales y Amortiguadora.	38
9.3.1.3 Elaboración de la Solución Resazurina.	40
9.3.1.4 Elaboración de la Solución Reductora.	41
9.3.1.5 Líquido Ruminal.	44
9.3.2 Elaboración de Frascos-Muestras.	46
9.4 Proceso de Filtrado.	48
9.4.1 Determinación de fibra detergente neutra (FDN).	48
10 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51

10.1	Periodo de muestreo.....	53
10.2	Análisis proximales.....	58
10.2.1	Análisis proximales del primer muestreo y segundo muestreo.....	58
10.3	Producción de gas.....	61
10.3.1	Producción de gas de especies del primer muestreo.....	62
10.3.2	Producción de gas de especies del segundo muestreo.....	65
11	CONCLUSIONES.....	75
12	BIBLIOGRAFIA.....	77
13	ANEXOS.....	83
13.1.	Determinación de análisis proximal.....	83
13.2.	Determinación de extracto etéreo.....	84
13.3.	Determinación de proteína cruda.....	85
13.4.	Determinación de cenizas.....	88
13.5.	Carbohidratos no Estructurales Totales.....	89
13.6.	Determinación de Fibra Detergente Neutra (FDN) y Fibra Detergente Acida (FDA) por el método de Van Soest.....	89
13.6.1.	Determinación de FDN.....	89
13.6.2.	Determinación de FDA.....	93

I. ÍNDICE DE FIGURAS.

	Pág.
Figura 1. Localidades de Santa Ana del Arco y Téjaro.....	31
Figura 2. Recolección de muestras y su pesaje.....	33
Figura 3. Prensa botánica.....	34
Figura 4. Determinación de Materia Seca y Humedad.	34
Figura 5. Disposición de las muestras recolectadas.	35
Figura 6. Vaso de precipitado 1 L, placa de calefacción e incorporación de reactivos.	39
Figura 7. Resazurina preparada (azul).	41
Figura 8. Extracción de Líquido Ruminal, Filtrado y Gasificado con CO ₂ (39 °C).	45
Figura 9. Medio de Cultivo ó Inoculo.....	46
Figura 10. Proceso elaboración de Frascos-Muestras.....	47
Figura 11. Vaciado de residuos y determinación de FDN del residuo.....	48
Figura 12. Finalización del proceso de filtrado.	49
Figura 13. Determinación de cenizas.....	49
Figura 14. Sitios de muestreo.	51
Figura 15. Estimación aproximada de fitomasa.	55
Figura 16. Producción de gas del primer muestreo.	62
Figura 17. Coeficiente de determinación de las especies del primer muestreo.....	65
Figura 18. Producción de gas del segundo muestreo.	66
Figura 19. Coeficiente de determinación de las especies del segundo muestreo.....	68

II. ÍNDICE DE CUADROS.

	Pág.
Cuadro 1. Equivalencias del análisis proximal (Weende) y las fracciones de fibra de Van Soest.	12
Cuadro 2. Metodología que se realizó en el proyecto	32
Cuadro 3. Medio de Fermentación ó Incubación.	37
Cuadro 4. Reactivos por solución para la técnica de producción de gas.....	38
Cuadro 5. Solución de Microminerales.	38
Cuadro 6. Solución de Macrominerales.....	40
Cuadro 7. Solución Amortiguadora.	40
Cuadro 8. Solución de Resazurina.....	41
Cuadro 9. Solución Reductora acorde al volumen total de Saliva Artificial.	42
Cuadro 10. Formulación de la Saliva Artificial y Medio de Fermentación.....	43
Cuadro 11. Arvenses obtenidas durante el periodo de muestreo.	53
Cuadro 12. Estimación de fitomasa en base fresca (BF) de los cultivos muestreadas.	55
Cuadro 13. Análisis proximales de las especies obtenidas en el primer muestreo.....	59
Cuadro 14. Análisis proximales de las especies obtenidas en el segundo muestreo.....	60
Cuadro 15. Parámetros de cinética de fermentación de producción de gas in vitro por especie del primer muestreo.	64
Cuadro 16. Parámetros de cinética de fermentación de producción de gas in vitro por especie del segundo muestreo.	67
Cuadro 17. Correlaciones entre los valores nutricionales y los parámetros del modelo de Orskov y McDonald (1979)	70

1 ANTECEDENTES.

Una industria bovina no se hace competitiva por el solo hecho de basar la alimentación de sus animales en el pastoreo. Para ello se requieren forrajes de alta calidad nutricional. La alimentación de los animales rumiantes tiene en los forrajes un recurso de gran importancia nutritiva y económica, que constituye usualmente la mayor parte de su dieta. Esto implica que los animales deben consumir pasturas que contengan adecuados niveles de nutrientes de alta digestibilidad y que sean eficientemente utilizados para la deposición de tejidos o la producción de leche. De allí que la calidad nutricional de los forrajes debe medirse como el producto del contenido de nutrientes, el consumo y la digestibilidad, todo lo cual, en última instancia se verá reflejado en el comportamiento productivo de los animales (Héctor, 2007).

Los métodos químicos se usan de manera rutinaria para realizar la evaluación de la calidad de los forrajes en cuanto a su contenido de los diferentes nutrientes. Los análisis químicos de mayor uso son los que constituyen el sistema de análisis denominado “proximal”, el cual fue desarrollado en la estación experimental de Weende, en Alemania, por Henneberg y Stohmann, en 1862, y que son reconocidos como métodos oficiales de análisis por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos en Estados Unidos de América (AOAC). Este tipo de análisis comprende la determinación de: Humedad (H), Extracto etéreo (EE), Fibra cruda

(FC), Proteína cruda (Nx6.25 PC), Cenizas (CEN) y Extracto libre de nitrógeno (ELN) (Rodríguez *et al.*, 2010).

En la década 1960 fue desarrollado por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos el método para determinar la Fibra Detergente Neutra (FDN) y Fibra Detergente Acida (FDA). Van Soest (1963), observó que los detergentes tienen la capacidad de disolver gran parte de los componentes celulares (citoplasma) y dejar la mayor parte de las paredes celulares (fibra) como material insoluble. A partir de estas a partir de estas observaciones Van Soest desarrollo un método para el análisis de forrajes mediante el uso secuencial de dos detergentes (Rodríguez *et al.*, 2010).

El primero consiste en una Solución Detergente Neutra a base de lauril sulfato sódico y EDTA (tetra acetato de etilén diamina) con ph ajustado a 7. El segundo detergente se conoce como Detergente Acido, y es a base de bromuro cetil trimetil amonio, disuelto en ácido sulfúrico a 1 N (normalidad) (Rodríguez *et al.*, 2010).

La **fracción soluble** en detergente neutro constituye los componentes citoplasmáticos fácilmente digestibles de la célula. La **fracción insoluble** en FDN constituye la pared celular, con sus componentes celulosa, hemicelulosa, lignina y sílice. Mientras sea menor el contenido de FDN y FDA el animal consume mayor cantidad del forraje (Rodríguez *et al.*, 2010).

Cuadro 1. Equivalencias del análisis proximal (Weende) y las fracciones de fibra de Van Soest.

Weende	Nutrimento	Van Soest
Proteína cruda	Nitrógeno	Contenido celular Fracción soluble
Extracto etéreo	Lípidos	
Extracto libre de nitrógeno	Azúcares	
	Almidones	
	Pectinas	
Fibra cruda	Hemicelulosa	FDN Fracción insoluble
	Celulosa	
	Lignina	
	Silicio	FDA
Materia mineral	Materia mineral	

(Shimada, 2003).

La producción de leche y el crecimiento de los rumiantes son limitados por la calidad del forraje, es por ello que el estudio de la cinética de la fermentación ruminal es necesario para estimar de una forma más precisa la cantidad de nutrientes digeridos desde los alimentos y las propiedades intrínsecas de estos que limitan su disponibilidad para los rumiantes (López *at al.*, 1998). Ya que el valor nutritivo de los alimentos se encuentra determinado por la biodisponibilidad

de nutrientes y dinámica de los procesos de solubilización e hidrolisis en el tracto gastrointestinal (Bruni, 2001).

La necesidad para precisar las características nutritivas de los alimentos para rumiantes debe aumentar en el futuro, debido a: 1) los avances en biología molecular, particularmente el desarrollo de plantas transgénicas; 2) los programas de mejoras de cosechas; 3) las limitaciones ecológicas y económicas relacionadas con el uso y/o vertimiento de los residuos y subproductos de las cosechas (Theodorou *et al.*, 1994). Todo lo anterior se relaciona íntimamente con la seguridad que se le brinda al consumidor de alimentos de origen animal. Los métodos de laboratorio para estimar el valor nutritivo de los alimentos se han mejorado desde las primeras ideas en 1725, cuando los alimentos para rumiantes eran evaluados como Unidades de Paja (Blaxter, 1986). Inicialmente, las técnicas fueron diseñadas para caracterizar el valor nutritivo más que para predecir la producción de los animales. La mejoría de los métodos de evaluación de alimentos tiene que seguir los nuevos conceptos de la química y la fisiología animal, así como los nuevos conocimientos de la microbiología del rumen y otros campos afines del saber (Pedraza, 2001).

Ha sido estimado que entre el 25 y el 50% de la variación en la respuesta productiva de los animales a los forrajes que consumen se debe a su digestibilidad (Mertens, 2000; Héctor, 2007). La evaluación del valor nutricional de los forrajes puede realizarse por métodos *in vivo*, *in situ* e *in vitro*; Debido a que los métodos *in*

vivo para estimar la digestibilidad parcial implican el uso de animales quirúrgicamente modificados que son costosos y exigentes en su manejo y cuidado, se han utilizado técnicas alternativas *in vitro*, en estos últimos se encuentra la técnica de producción de gas, la cual no solo determina la extensión, sino también la cinética de degradación del alimento a través del volumen de gas liberado, directamente como un producto de la fermentación (Theodorou *et al.*, 1994).

2 LA TÉCNICA DE PRODUCCIÓN DE GAS EN LA EVALUACIÓN DE ALIMENTOS PARA RUMIANTES.

2.1 Bases biológicas de la producción de gas.

Los mamíferos rumiantes son capaces de utilizar la celulosa, hemicelulosa, pectina, nitrógeno no proteico, por dar algunos ejemplos, debido a que las cavidades pre-gástricas proporcionan un excelente medio para el crecimiento bacterias, protozoarios, hongos y levaduras, aunque su número es mucho menor. Estos animales convierten los materiales de la planta en ácidos grasos volátiles, metano, CO², amoníaco y células microbianas (Frandsen y Spurgeon, 1995; Simada, 2003).

El rumen es una cámara de fermentación predominantemente anaeróbica, con un pH variable (5.5 y 7.0) de acuerdo con el tipo y cantidad de alimento, momento en que se mide, y una temperatura entre 39 y 40°C, producto de la misma

fermentación microbiana y del metabolismo corporal. La atmosfera ruminal típica está compuesta de dióxido de carbono (69-70%), metano (30-40%), nitrógeno (7%), oxígeno (0.6 %), hidrógeno (0.2 %) y ácido sulfhídrico (0.01%). Se calcula que cerca de la tercera parte de la microbiota se encuentra libre en el líquido ruminal (Shimada, 2003; Mc Donald, *et al.*, 2011).

El contenido de rumen que es constantemente procesado tiende a estratificarse en tres capas: la inferior, consiste en líquido que contiene alimento digerido en parte e incluye granos. La capa intermedia, consta de partículas alimenticias que han entrado más en forma reciente al rumen y no están del todo remojadas y la capa superior consiste en dióxido de carbono y metano que son producidos de forma continua por los microbios (Frandsen y Spurgeon, 1995).

La población bacteriana que se relaciona con la digestión fermentativa es muy vasta; en el rumen se encuentran por lo menos 28 especies importantes, su población es aproximadamente de 5,000 a 20,000 millones por gramo de contenido ruminal. Su tamaño es de cuatro micras en promedio (Cunningham, 1999; Shimada, 2003). Los protozoarios habitan en el rumen en asociación con las bacterias. Los protozoarios son ciliados y pertenecen al género *Isotricha* o *Entodinium*, aunque también hay especies de flagelados (Cunningham, 1999; Van y Regueiro, 2008).

La población de protozoarios en el rumen es aproximadamente de 100 mil hasta 2 millones por mililitro. Miden de 20 a 200 micras. El aporte de proteína microbiana

proveniente de los protozoarios puede ser desde menos de 10% hasta casi 50%. Una característica peculiar de todos los protozoarios es su capacidad de asimilar azúcares solubles y transformar 80 % de ellos en un polisacárido de estructura similar al almidón (Mc Donald, *et al.*, 2011). La lignina es importante ya que tiende a encapsular a los carbohidratos presentes en la pared celular, disminuyendo la digestibilidad de los carbohidratos al protegerlos de la acción de la celulasa bacteriana. La concentración de lignina en las plantas aumenta con la edad y con la temperatura ambiental, por ello las plantas jóvenes que se desarrollan durante la estación fría son más digeribles que las plantas maduras que crecen cuando el clima es cálido (Cunningham, 1999; McDonald, *et al.*, 2011).

2.2 La técnica de producción de gas como técnica para la evaluación de pastos y forrajes empleados en la alimentación de rumiantes.

La información actual sobre el valor nutritivo de pastos y forrajes se basa en su contenido de proteína, fibra, grasa y ceniza, la cual se obtiene mediante el análisis tradicional de Weende, pero su digestibilidad y su contenido de componentes estructurales actualmente, se enfatiza en el uso de métodos *in vivo* e *in vitro* para la evaluación de alimentos. Desde que se propuso, la técnica de producción de gas se ha utilizado para describir la cinética de fermentación y el valor nutritivo de forrajes principalmente de pajas, granos de cereales, arbustivas y residuos agro-industriales (Juárez *et al.*, 2009). Ya que la disponibilidad de alimento para las bacterias del rumen o enzimas digestivas de origen animal es la estimación básica

realizada por los procedimientos de laboratorio *in vitro*. Por lo tanto, los métodos *in vitro* se relacionan más con la digestibilidad verdadera de lo que la digestibilidad aparente porque los métodos *in vitro* son capaces de estimar la materia fecal endógena. Las pérdidas metabólicas también se ven influidas por el estado fisiológico y la condición del animal (Van Soest 1994).

La composición nutricional de un alimento es sólo un indicativo del contenido de estos pero no de su disponibilidad. La digestibilidad es una medida de la disponibilidad de las fracciones nutricionales de un alimento y corresponde a la proporción del alimento consumido que no es excretado en las heces (Galyean, 1997; Rymer, 2000; Héctor, 2007).

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 (Juárez *et al.*, 2009). La técnica de producción de gas aparece como un sistema *in vitro* de alta capacidad operativa y bajo costo, en la cual los perfiles de producción de gas pueden ser generados utilizando sistemas semi o totalmente automatizados. La medición de la producción de gas como una aproximación a la fermentación ruminal no es nueva. McBee (1953) describió un método

manométrico para medir la producción de gas generado por una mezcla de bacterias ruminales que posteriormente fue sufriendo diferentes modificaciones.

Menke *et al.* (1988), en Alemania describieron un sistema *in vitro* en el cual la producción de gas de un sustrato es usada para la predicción de la digestibilidad y el contenido de energía metabolizable. El método utiliza una jeringa en la cual se incubaba al sustrato en un medio amortiguador e inóculo de fluido ruminal. La producción de gas es medida a diferentes intervalos de tiempos por la posición del pistón en la jeringa. Recientemente en diferentes países se ha trabajado en métodos para simplificar y computarizar la medición de gas (Pell y Schofield, 1993; Theodorou *et al.*, 1994; Cone *et al.*, 1994; Mauricio *et al.*, 1999). Otra técnica *in vitro* consiste en la utilización de enzimas en lugar de microorganismos, cuya principal ventaja es que no requiere animales como donadores de inóculo (Posada y Oseguera, 2005).

La ventaja que ofrece el método *in vitro* es que el producto final que se mide (gas) es resultado directo del metabolismo microbiano, en lugar de registrar la desaparición de sustrato. Una segunda ventaja es que la formación de productos finales de la fermentación, pueden ser monitoreado a intervalos cortos de tiempo y por lo tanto la cinética de fermentación puede ser descripta con precisión (Bruni, 2001).

La técnica de producción de gas emplea sustratos molidos, medio anaeróbico,

temperatura de 39°C e inóculo ruminal. La técnica puede medir el volumen de gas a presión atmosférica constante, la presión de gas a un volumen fijo, o hace una combinación de ambos procedimientos; disponiendo para tal efecto de metodologías manuales, semiautomáticas y automáticas.

La energía para el crecimiento microbiano es derivada de la fermentación de los carbohidratos, cuya digestión anaerobia produce ácidos grasos volátiles (AGV), succinato, formato, lactato, etanol, dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4), y trazas de hidrógeno (H_2); también aportan esqueletos de carbono esenciales para la síntesis de biomasa microbiana (Schofield *et al.*, 1994). La producción de gas desde la fermentación de la proteína es relativamente pequeña y la derivada desde la grasa es insignificante (Makkar, 2001).

La cantidad de material requerido para evaluar la cinética de la fermentación varía desde 0.1 a 1 g. el tamaño de la partícula es de importancia ya que un menor tamaño de partícula aumenta el área de superficie para la degradación microbiana (Williams, 2000). El fluido ruminal tomado después del ayuno es menos activo que aquel colectado dos horas después de alimentar, pero es más consistente en su composición y actividad. Como regla general, se recomienda colectar el inóculo antes de la alimentación y de por lo menos tres animales consumiendo la misma dieta (Williams, 2000).

Consecuentemente existe una tendencia a la sustitución de microbios por

enzimas a pesar de que estas pueden ser inactivadas por la presencia de sustancias antinutricionales, o la presencia de fibra. En algunos casos excepcionales puede ocurrir lo mismo con los inóculos microbianos, en situaciones de sustrato limitante, donde ocurre lisis microbiana seguida por una inactivación (Posada y Oseguera, 2005).

Estudios *in vitro* describen que un medio conteniendo 20 a 25% de fluido ruminal da los mejores resultados (Schofield, 2000). Sin embargo, la cantidad de inoculo adicionado varia ampliamente entre grupos (Williams, 2000). Algunas proporciones liquido ruminal: buffer son 1:2 (Cone *et al.*, 1996; Menke y Steingass, 1998); 1:4 (Pelt y Schofield, 1993), 1:9 (Theodorou *et al.*, 1994; Mauricio *et al.*, 1999).

La diferencia más importante en las variantes reportadas (Pelt y Schofield, 1993; Theodorou *et al.*, 1994; Cone *et al.*, 1996 y Mauricio *et al.*, 1999), radica en la evacuación o no, del gas generado durante la fermentación entre los intervalos de medición. Theodorou *et al.*, (1994) reportaron perturbaciones en el crecimiento microbiano por no extraer el gas generado en los diferentes intervalos de tiempo, mientras que los investigadores de la Universidad de Cornell no (Schofield y Pell, 1995).

El sistema *in vitro* puede verse afectado por: tipo de sustrato, especie donadora del inoculado, tampón empleado, pH del medio (6.5-6.8), número de

microorganismos, dieta del donador, temperatura fuera de 39°C y agitación. Particularmente importante es la elección del buffer, y ya que puede afectar la cantidad de gas que se mide, debido a que el CO² generado como producto de la fermentación (Bruni, 2001).

3 LA IMPORTANCIA DE LOS RECURSOS FORRAJEROS NATURALES EN LA ALIMENTACION DE LOS RUMINATES.

La capacidad de los rumiantes para utilizar material fibroso, es una característica favorable ya que con el fuerte incremento de la población, principalmente en los países en desarrollo, aumenta la demanda de alimentos. Los rumiantes deben ser alimentados, con forrajes y otros alimentos que no deben estar en competencia con la alimentación humana (Castelán *et al.*, 2003. citado por Martínez *et al.*, 2011).

La producción de leche es una actividad que proporciona ingresos al productor, mejora su alimentación y permite el empleo de mano de obra familiar, como la de menores de edad, mujeres y personas de la tercera edad. La unidad de producción de leche se considera como un sistema cuyos elementos son: tamaño del hato, nivel de capitalización, nivel de producción, eficiencia reproductiva (días abiertos, presencia de calores, servicios por concepción y presentación del primer estro fértil), nivel de tecnología y comercialización, los cuales interactúan y se relacionan con el ambiente (Ortiz *et al.*, 2005).

La alimentación del ganado es basada en pastoreo o mediante el suministro de forrajes o esquilmos producidos en la propia granja. En algunas regiones los esquilmos agrícolas constituyen la base de la alimentación. Cuando se proporcionan granos, por lo general, son producidos en la propia granja y la compra de insumos forrajeros se realiza en forma flexible (Ortiz *et al.*, 2005).

Los diversos estudios sobre sistemas de producción de bovinos, han encontrado la necesidad de optimizar los recursos alimentarios disponibles, aprovechando tanto de los residuos de cosecha de los diferentes cultivos, como en el uso de plantas de crecimiento natural de parcelas de cultivo (Devendra y Sevilla, 2002; Val *et al.*, 2005).

Los animales que pastorean son muy importantes para la agricultura. Ellos pueden ser utilizados para controlar malezas o para cosechar residuos de cultivos. Pastorear animales también puede ser un aporte para las ganancias de la granja, resultando en una granja más sustentable desde el punto de vista económico (Rihehart, 2008).

Val *et al.* (2005) realizaron un estudio sobre las estrategias de alimentación en sistemas lecheros a pequeña escala, en donde se identificó que las arvenses naturales como recurso forrajero es importante en comunidades de la región lechera de Morelia, Michoacán, y obtuvieron que esto ha sido una práctica común en la región ya que ofrece algunas ventajas como: transformar a una plaga invasora de los cultivos en una especie aprovechable para el ganado, evitando

costosos medios de control de malezas e incluso a decir de los productores participantes podría contribuir a disminuir trastornos como "el timpanismo" causado por el consumo de alfalfa.

El término arvenses o "maleza" se refiere al efecto nocivo, hacia el cultivo de las plantas silvestres que crecen en los campos agrícolas. Estas plantas pueden reducir el rendimiento e influir en la calidad del cultivo, lo que causa grandes pérdidas económicas al agricultor, porque las especies de arvenses compiten por agua, nutrientes y luz, especialmente en las plantaciones nuevas. Estas plantas dificultan las labores de cosecha y además hospedan plagas que provocan daños al cultivo (Caamal, 2004).

Las arvenses han evolucionado a la par de los cultivos aprovechando las prácticas agrícolas que el hombre realiza. No a todas las arvenses se les considera malezas, a gran cantidad de ellas se les da diferentes usos y se les cataloga como plantas útiles, por ejemplo, por controlar la erosión, servir de alimento y abrigo para los animales, ser medicinales, aportar materia orgánica al suelo, constituir una fuente importante de germoplasma, atraer a las abejas por su néctar, servir de hospederas de enemigos naturales de las plagas, etc., (Urzúa, 2008).

En la actualidad se manejan una serie de métodos de control de maleza que crecen principalmente en los cultivos por mencionar los siguientes: a) Culturales, b) Uso de semillas limpia, c) Densidades y distribuciones de siembra, d) Fechas

de siembra, e) Rotación de cultivos, f) Limpieza de equipos e implementos, g) Manejo del ganado y su estiércol, h) Biológicos como microorganismos, invertebrados, vertebrados, otras plantas, etc., i) Métodos manuales, j) Métodos mecánicos, k) Uso de coberturas mediante la intercepción de la luz con materiales plásticos o residuos, l) Fuego previo a la instalación de los cultivos, o como práctica de mantenimiento de los pastizales, m) Inundación (Urzúa, 2008).

Las malezas, son por lo general de mayor contenido proteico que los pastos, muchas malezas son consideradas hierbas, pero la mayoría son palatables y nutritivas cuando son aun inmaduras. Malezas típicas de praderas en regiones templadas del hemisferio norte que son altas en contenido proteico y digestibilidad. En terrenos áridos, la alfalfa de elevada dormancia puede convertirse en un muy buen suplemento para ganado, como también el trébol “birdsfoot” y “cicer milkvetch,” que además de ser un forraje de alta calidad, tiene características anti-hinchazón (Rihehart, 2008).

Las malezas más comunes usadas en praderas templadas incluyen tréboles, arvejas, trébol blanco, arveja peluda “Hairy vetch”, trébol colorado o trébol “Berseem” son generalmente sobre semillados dentro de praderas de estaciones cálidas con “ryegrass” o granos pequeños en el las regiones sud-humedas para suplementar una pradera de invierno. Algunas leguminosas de climas cálidos de excelente calidad a considerar en climas templados son las “cowpeas” anuales y maníes perennes. Los nabos también logran una excelente extensión del cultivo

anual de la estación al proveer pastoreo de alta calidad en el otoño en algunas regiones templadas (Rihehart, 2008).

En la época de lluvias existe una gran disponibilidad de recursos naturales forrajeros, tal es el caso de las arvenses (plantas que crecen dentro de los cultivos de maíz), que son ampliamente utilizadas para la alimentación del ganado. Este tipo de prácticas son comunes en los sistemas de producción campesinos con recursos económicos limitados, por lo tanto su uso representa un ahorro considerable en la compra de forrajes y una mejora en la alimentación del ganado (Castelán *et al.*, 2003. citado por Martínez *et al.*, 2011).

El estado de madurez y la especie de arvenses determinan la composición química y la digestibilidad de la planta y el manejo de estos dos factores son determinantes para lograr un efecto positivo en la alimentación del ganado. De esta forma la inclusión de arvenses en etapas tempranas de maduración en una dieta basal de rastrojo de maíz puede tener un efecto positivo en el ambiente ruminal y en el animal, debido a que las arvenses aportan una mayor cantidad de energía y proteína que están fácilmente disponibles para los microorganismos ruminales (Martínez *et al.*, 2011).

Martínez *et al.*, (2011). Llegaron a la conclusión que la inclusión de arvenses en una dieta cuyo forraje basal es el rastrojo de maíz resulta en un mayor aporte de proteína cruda a la dieta y en una mayor digestibilidad. Además la presencia de

metabolitos secundarios en las concentraciones encontradas en el estudio, no tiene un efecto directo sobre la fermentación ruminal, por lo que pueden ser utilizadas como alimento para el ganado bovino.

4 MÉTODOS PARA ESTIMAR LA DISPONIBILIDAD DE FORRAJE.

Las mediciones de disponibilidad de materia seca (MS) son esenciales para determinar carga animal, productividad y para evaluar las estrategias de manejo de la praderas. Existen diferentes tipos de métodos para estimar la disponibilidad de forraje, entre estos están los métodos destructivos, los cuales son los siguientes:

Disco medidor: este es un disco de aluminio de 30 cm de diámetro y 1,9 cm de grosor, el cual está unido en una vara por la cual se desliza un disco, con el fuste marcado a intervalos de 1 cm. Se basa en la determinación del volumen de forraje, el cual está compuesto por altura, densidad y compresibilidad (Hollstein, 1984 citado por Catalina, 2002).

Plato medidor: es un plato cuadrado de acrílico de 40X40 cm con un agujero en el medio que le permite descender, se deja caer hasta que toque un mínimo de 3 hojas, luego se lee la altura en la vara graduada (Cantero y Demanet, 2008).

Capacitancia electrónica o bastón medidor: El funcionamiento de este método se basa en que el contenido de agua del forraje permite el paso de corriente

eléctrica entre 2 conductores que contiene el instrumento, así, a mayor contenido de agua mayor paso de la corriente eléctrica. Los instrumentos de capacitancia basan su funcionamiento en la diferencia de constantes dieléctricas que se producen entre el aire y el forraje (baja y alta respectivamente). Los cambios en capacitancia provocados por el reemplazo de aire por forraje bajo el cabezal medidor permiten establecer una relación entre capacitancia y disponibilidad de forraje (Cantero y Demanet, 2008).

Regla medidora: también llamado método de obstrucción visual permite registrar la altura del pasto, una vez calibrada contiene una tabla con pares de datos que relacionan la altura con cierta disponibilidad de materia seca, utiliza una vara de 120 cm de alto y 2,5 cm de ancho, la cual está marcada y cada 10 cm por barras negras y rojas en forma alternada y cada 2 cm por barras blancas angostas. Las mediciones se deben realizar desde una altura de 1m y a una distancia de 4 m (Hollstein, 1984 citado por Catalina, 2002).

Método de corte: se realiza cortando con tijeras cuadrantes a alturas diversas, el material obtenido se pesa en verde y en bolsas de polietileno se congela a 5°C. Posteriormente las bolsas se descongelan y las muestras se colocan en bolsas de papel y se secan en una estufa de aire forzado a 75°C por 48 horas y finalmente se pesan en seco en una balanza de precisión (Hollstein, 1984 citado por Catalina, 2002; Reinoso y Soto, 2006).

La fitomasa corresponde al material vegetal medido que posee la pradera y se expresa en kg de materia seca por hectárea (kgMS/ha). Este método consiste en cortar forraje a nivel de suelo en diversos puntos representativos del potrero, pesaje y posterior secado (Fundación para la Innovación Agraria, 2004).

5 PLATEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En la región de Tarímbaro-Álvaro Obregón existe una gran variedad de arvenses, para la mayoría de los productores estas son catalogadas como maleza de campo. Debido a su prolificidad de estas en los cultivos destinados al ganado y ser consideradas de bajo valor nutricional. Sin embargo para muchos productores de leche que tienen limitantes en la disponibilidad de áreas agrícolas, aprovechan las arvenses al integrarlas a la dieta de los animales. Esta estrategia con lleva ventajas como ahorrar costos en eliminarlas (pesticidas, equipo), se reducen los costos por concepto de alimentación. Sin embargo, son pocos los estudios que han caracterizado su valor nutritivo y alimenticio en los rumiantes lo cual hace que las estrategias para su aprovechamiento sean muy variadas y poco efectivas.

6 HIPÓTESIS.

El poder evaluar el valor nutritivo y alimenticio de las arvenses que crecen en la zona de estudio permitirá el disponer de información para optimizar los recursos forrajeros usando mejores estrategias en la alimentación del ganado de los sistemas ganaderos a pequeña escala, así como el eficientar los recursos naturales con los que se cuenta en la región.

7 JUSTIFICACION

La ganadería lechera a pequeña escala en la región de Tarímbaro-Álvaro Obregón es una de las actividades económicas de mayor importancia de la región, considerando el número de empleos que genera y el número de familias que obtienen su sustento de esta actividad. A pesar de las fortalezas de esta actividad, una de las principales limitantes es el uso eficiente de los recursos forrajeros, esto hace que el uso del suelo se intensifique privilegiando la superficie para los cultivos destinados para el consumo humano, por lo que el disponer recursos forrajeros mejores y más baratos contribuirá de manera significativa a la viabilidad y sustentabilidad de las explotaciones lecheras a pequeña escala de la entidad.

8 OBJETIVOS

- a) Identificar las arvenses que son utilizadas en la alimentación de las vacas en las localidades de Téjaro y Santa Ana.
- b) Evaluar el potencial de producción de fitomasa de la localidad de Santa Ana del Arco y Téjaro a través del método indirecto de corte.
- c) Determinar el valor nutricional de las arvenses de las localidades de Santa Ana del Arco y Téjaro incluidas en la dieta de bovinos mediante el análisis químico proximal.
- d) Evaluar la digestibilidad de las arvenses de la localidad de Santa Ana del Arco y Téjaro por medio de la técnica de producción de gas *in vitro*.

9 MATERIAL Y MÉTODOS.

El proyecto se realizó en las comunidades de Téjaro y Santa Ana del Arco correspondiente al municipio de Tarímbaro. Estas comunidades se encuentran a una altura de 1860 msnm, su clima es templado con lluvias en verano. En la figura 1 se muestran las localidades de Santa Ana del Arco y Téjaro.

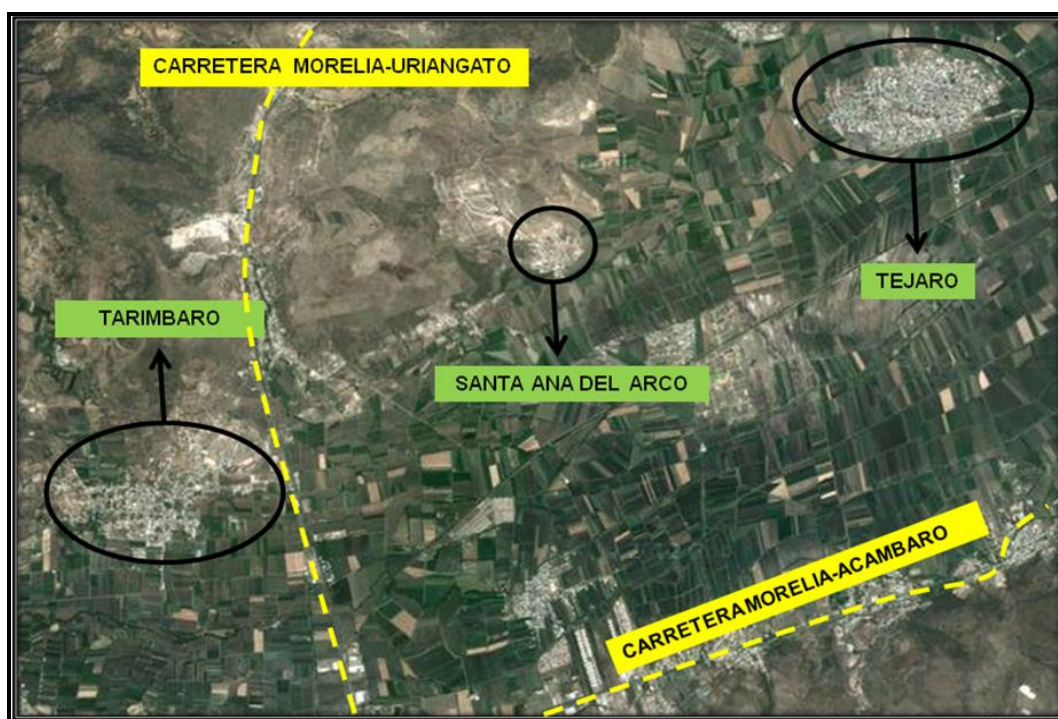
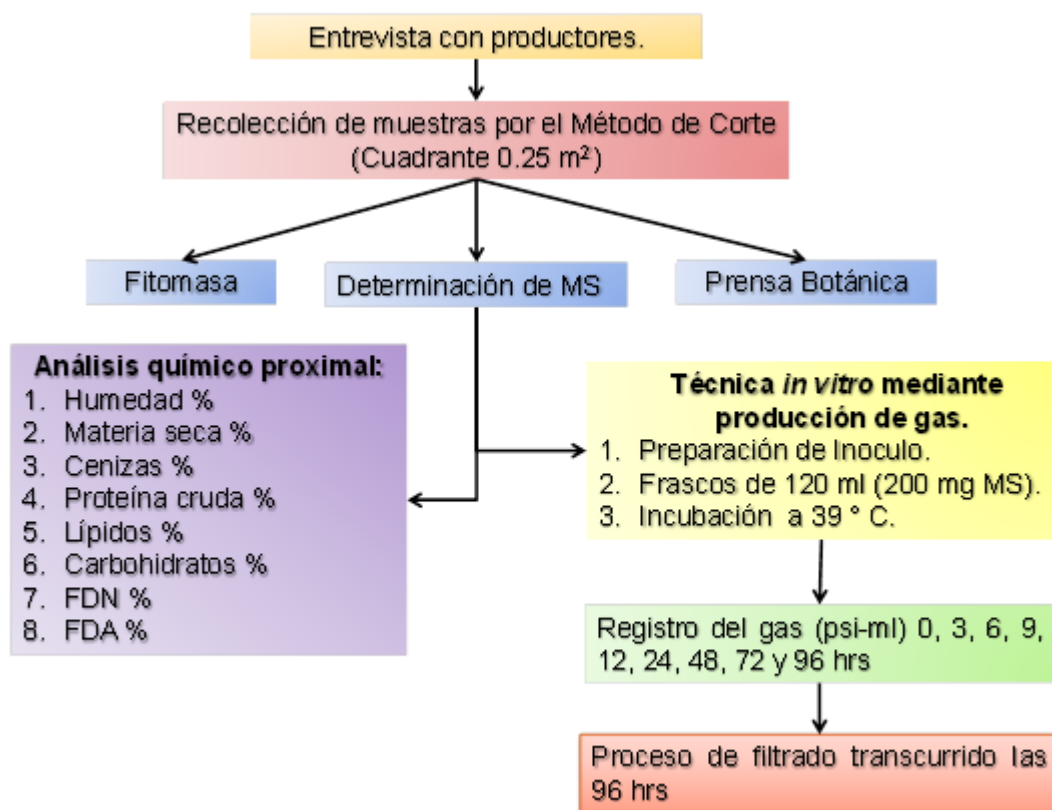


Figura 1. Localidades de Santa Ana del Arco y Téjaro.

En el cuadro 1 se muestra de manera esquematizada y resumida los procedimientos que se realizaron en el proyecto.

Cuadro 2. Metodología que se realizó en el proyecto



9.1 Entrevista con productores.

De los productores que accedieron a formar parte de este proyecto de las localidades de Santa Ana del Arco y Téjaro, se entrevistaron de manera individual para que nos indicarán: ¿Cuál es el forraje que le dan al ganado?, ¿Cuáles son las arvenses consumidas por el ganado?, ¿Cuál es su nombre común de cada arvense?, además ¿Cuáles son las que ellos han observado que tienen un mejor comportamiento al ser consumidas por el ganado.

9.2 Recolección de muestras.

Posterior a la entrevista se recolectaron los ejemplares indicados por los

productores, de la siguiente manera:

- Nos trasladamos a la pradera de la cual el productor sustrae el forraje en verde para alimentar al ganado.
- Una vez identificada la pradera, se recogieron las arvenses mediante muestreo aleatorio de toda la superficie sembrada, para ello se utilizó el método directo ó destructivo, donde se tomó como referencia un marco de 50X50 cm (0.25 m²), el cual se arrojó aproximadamente de 13 a 23 veces sobre toda la superficie sembrada hasta juntar un total de 10 kg. de forraje en verde para obtener el rendimiento de la superficie sembrada (t/ha) Figura 2a.
- Obtenidos los 10 kg totales se separaron las arvenses del resto del forraje para obtener así las muestras de las diferentes especies de arvenses con sus respectivos pesos e identificación Figura 2b.



Figura 2. Recolección de muestras y su pesaje.

- Asimismo se tomaron ejemplares individuales de las arvenses recolectadas en el muestreo para armar una prensa botánica para su identificación tal como lo menciona Cascante (2008). Figura 3.



Figura 3. Prensa botánica.

- Una vez obtenidas y separadas las distintas especies de arvenses se llevaron al Laboratorio de Análisis de Alimentos y Nutrición Animal (LAANA) de la U.M.S.N.H., donde se determinó el contenido de Materia Seca (MS%) y Humedad (H%), hecho esto se guardaron para su posterior procesamiento. Figura 4.



Figura 4. Determinación de Materia Seca y Humedad.

Estos pasos se llevaron a cabo de manera individual en cada una de las praderas de los productores que formaron parte del proyecto.

El periodo de muestreo comprendido fue de 2 muestreos, uno se llevó antes de la época de lluvias y el segundo en época de lluvias. Una vez que se concluyó el primer muestreo, del total de muestras (arvenses) obtenidas se hicieron “pools” de cada especie correspondientes, y así mismo se procedió con las muestras obtenidas en el segundo muestreo.

De cada pool creado en el primer y segundo muestreo, una parte se usó en el Análisis Químico Proximal y la parte restante se molió a un tamaño de partícula <2mm para ser sometido a la técnica de producción de gas *in vitro*, como se observa en el figura 5. Además de las muestras obtenidas se usaron 2 muestras de forraje como comparación, de las cuales una muestra era alfalfa (*Medicago sativa*) en prefloración y la muestra restante era alfalfa en floración temprana; estas muestras se formaron con las colectas de ambos muestreos. Ambas muestras de alfalfa también se sometieron a todos los procesos por los que pasaron las arvenses obtenidas en este proyecto.

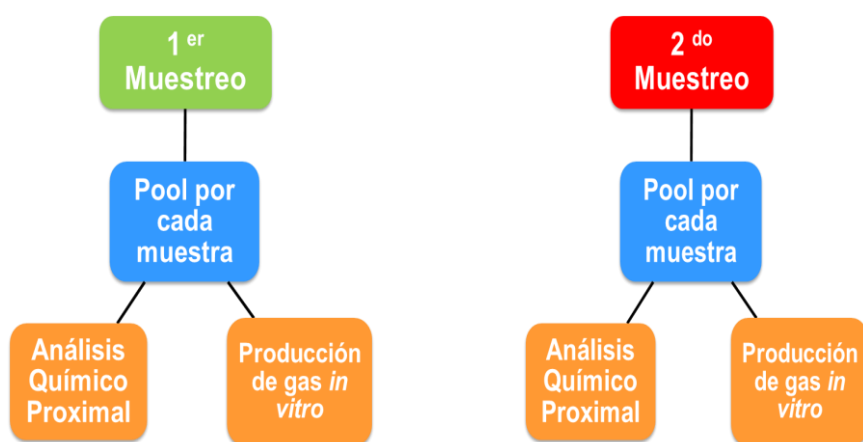


Figura 5. Disposición de las muestras recolectadas.

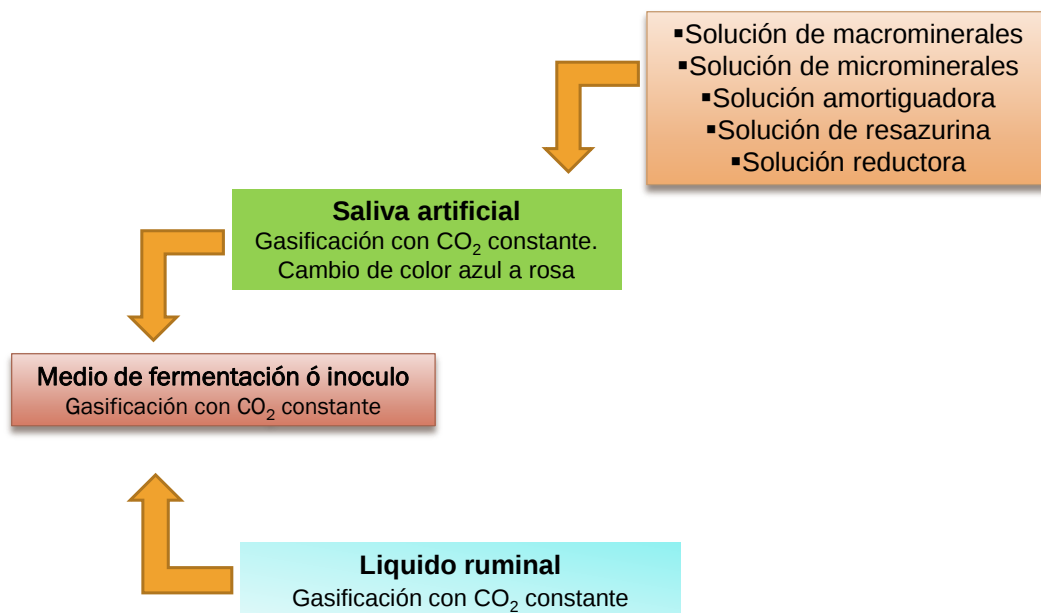
Los análisis químicos proximales se determinaron de acuerdo al método de Weende descrito por (AOAC), para estimar los parámetros de HUM%, MS%, EE%, CEN%, y para la determinación de Fibra detergente Neutra(FDN) y Ácida (FDA), se utilizó el método estandarizado de la marca ANKOM Technology®. Todos estos se describen paso a paso en la sección de anexo de este proyecto. Por último se determinaron los carbohidratos no estructurales (CNE%) por la aplicación de una fórmula, la cual es por la diferencia de los demás parámetros antes mencionados.

9.3 Técnica de digestibilidad *in vitro* mediante la producción de gas

Para la técnica de producción de gas *in vitro* se necesitó de diversas soluciones las cuales formaron el “**medio de fermentación o incubación**”, la elaboración de estas soluciones se hizo de acuerdo a la forma descrita por los Menke y Steingass (1988). En el cuadro 3 se esquematiza las soluciones que forman el medio de fermentación. Adicionalmente a las soluciones que muestran en el cuadro, también se requiere de otros dos componentes clave, el primero de ellos es el líquido ruminal recién extraído de 2 o 3 bovinos en ayuno, el segundo componente es un tanque de gas CO₂ el cual se ocupará para asegurar las condiciones de anaerobiosis durante las etapas de inoculación e incubación.

9.3.1 Elaboración del Medio de Fermentación o Incubación.

Cuadro 3. Medio de Fermentación ó Incubación.



9.3.1.1 Elaboración de Saliva Artificial.

La preparación de esta fue a partir de “5 soluciones”, las cuales se deben fabricar de forma individual con sus respectivos reactivos para poder conjuntarse y así crear la saliva artificial. En el cuadro 4 se observan los reactivos que forman parte de cada una de las soluciones.

Cuadro 4. Reactivos por solución para la técnica de producción de gas.

Solución de elementos traza Microminerales	Solución Amortiguadora	Solución de Macroelementos	Solución de Resazurina	Solución Reductora
CaCl ₂ ·2H ₂ O (Cloruro de calcio dihidratado)	NaHCO ₃ (Bicarbonato de sodio)	Na ₂ HPO ₄ (Fosfato disodilo)	Rezazurina	1MNaOH (Hidróxido de sodio a 1 mol)
MnCl ₂ ·4H ₂ O (Cloruro de magnesio)	(NH ₄) HCO ₃ (Bicarbonato de amonio)	KH ₂ PO ₄ (Fosfato de potasio monobásico)	Agua destilada	Na ₂ S ₉ ·H ₂ O (Sulfuro de sodio monohidratado)
CoCl ₂ ·6H ₂ O (Cloruro de cobalto)	Agua destilada	MgSO ₄ (Sulfato de magnesio)		Agua destilada
FeCl ₂ ·6H ₂ O (Cloruro férrico)		Agua destilada		
Agua destilada				

(Menke y Steingass, 1988).

9.3.1.2 Elaboración de la Solución de Microminerales, Macrominerales y Amortiguadora.

Para la preparación de la Solución de Microminerales se pesaron de manera individual cada reactivo en una báscula digital analítica de acuerdo al cuadro 5.

Cuadro 5. Solución de Microminerales.

Reactivo Químico	Gramos (g)
CaCl ₂ ·2H ₂ O	13.2
MnCl ₂ ·4H ₂ O	10.0
CoCl ₂ ·6H ₂ O	1.0
FeCl ₂ ·6H ₂ O	0.8
Agua Destilada	1 Litro

(Menke y Steingass, 1988).

Una vez que se obtuvo los pesos individuales de cada reactivo, se colocó un vaso de precipitado con capacidad de 1000 ml (1 L) con 500ml de agua destilada en una placa de calefacción y agitación CIVEQ® modelo 78-1, a una temperatura aproximadamente de 30 °C y a una velocidad de 600-1000 rpm. Figura 7a. Posteriormente se le agregó de un reactivo a la vez hasta que se incorpore perfectamente al agua destilada de manera individual, concluido esto se le adicionó agua destilada hasta completar 1 L total de la solución. Figura 7b.

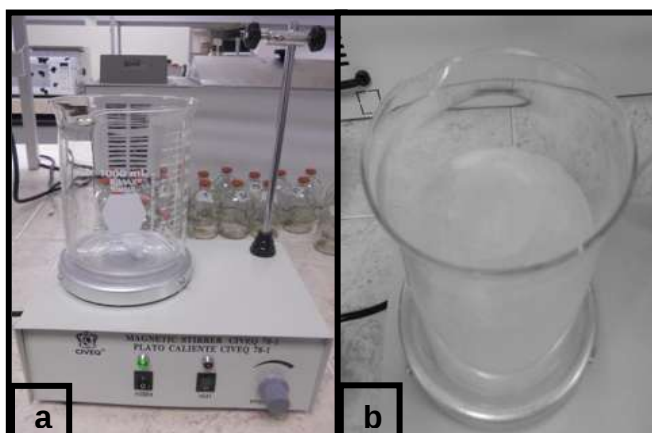


Figura 6. Vaso de precipitado 1 L, placa de calefacción e incorporación de reactivos.

Para la elaboración de las Soluciones de Macrominerales y Amortiguadora, se realizaron los pasos descritos anteriores para la elaboración de la solución de Microminerales. En el cuadro 6 y 7 se encuentran los pesos individuales de cada reactivo usados para la preparación de las Soluciones de Macrominerales y Amortiguadora.

Cuadro 6. Solución de Macrominerales.

Reactivo Químico	Gramos (g)
Na ₂ HPO ₄	5.7
KH ₂ PO ₄	6.2
MgSO ₄	0.6
Agua Destilada	1 Litro

(Menke y Steingass, 1988).

Cuadro 7. Solución Amortiguadora.

Reactivo Químico	Gramos(g)
NaHCO ₃	35
(NH ₄) HCO ₃	4
Agua Destilada	1 Litro

(Menke y Steingass, 1988).

9.3.1.3 Elaboración de la Solución Resazurina.

En un vaso de precipitado con capacidad de 500 ml se le adiciono 50 ml de agua destilada subsiguientemente se colocó en una placa de calefacción y agitación CIVEQ[®] modelo 78-1, a una temperatura aproximadamente de 30 °C y a una velocidad de 600-1000 rpm. Después se pesaron en una báscula digital analítica 100 mg de Resazurina para ser adicionados al vaso de precipitado hasta que se incorpore por completo, después se complementó con agua destilada hasta tener 100 ml totales de solución. En el cuadro 8 se encuentran las cantidades del reactivo a incorporar. Importante el color de esta solución debe ser azul. Figura 8.

Cuadro 8. Solución de Resazurina.

Reactivo Químico	Miligramos (mg)
Resazurina	100 mg
Agua Destilada	100 ml

(Menke y Steingass, 1988).

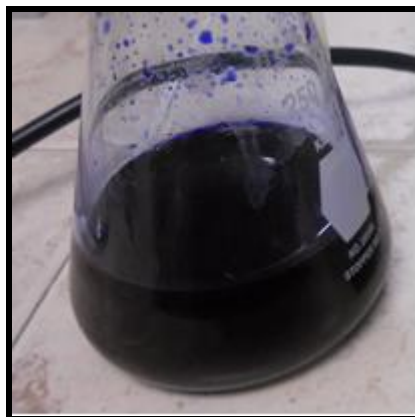


Figura 7. Resazurina preparada (azul).

9.3.1.4 Elaboración de la Solución Reductora.

La fabricación de la Solución Reductora se llevó acabo el mismo día que se corrieron las muestras, esto se respetó a lo largo de todo el proyecto. Para el cálculo de esta solución nos basamos en el volumen total de saliva artificial a preparar, y la cantidad a preparar de la Saliva Artificial está determinada por el número de frascos a preparar.

Antes de preparar la Solución Reductora se elaboró separadamente el hidróxido de sodio a 1 mol en 1 L de agua destilada, para ello se ocupó 40.98 gramos de hidróxido de sodio (NaOH) al 98 % de pureza, se pesó el hidróxido en una bascula digital analítica, después se colocó sobre una placa de calefacción y agitación CIVEQ[®] modelo 78-1, un vaso de precipitado con capacidad de 1 L, cual se llenó

con 500ml de agua destilada a 39 °C a velocidad 600-1000 rpm. Posteriormente se agregó el hidróxido y se complementó hasta tener el 1 L de solución. Una vez fabricado el 1MNaOH (Hidróxido de sodio a 1 mol) se repitió los mismo pasos descritos anteriormente para preparar la solución reductora Cuadro 9.

Cuadro 9. Solución Reductora acorde al volumen total de Saliva Artificial.

Reactivos Químicos	Volumen Total Saliva Artificial			
	500 ml	1000 ml	1500 ml	2000 ml
Agua Destilada (ml)	23.8	47.5	71.3	95.0
1M NaOH (ml)	1.0	2.0	3.0	4.0
Na ₂ S ₉ .H ₂ O (mg)	168	336	504	672
Solución Reductora Total (ml)	25	50	75	100

(Menke y Steingass, 1988).

Posteriormente finalizado la preparación de la solución reductora, a continuación se unieron todas las soluciones antes descritas para formar la Saliva Artificial y cuyo volumen total está determinado por el número de frascos-muestras a usar.

Cuadro 10.

Cuadro 10. Formulación de la Saliva Artificial y Medio de Fermentación.

Tipo de Solución	ml	ml	ml	ml	ml	ml
Agua Destilada	14.22	47.4	237.5	475.0	712.5	950.0
Solución Macrominerales	7.2	24	120.0	240.0	360.0	480.0
Solución Amortiguadora	7.2	24	120.0	240.0	360.0	480.0
Solución Microminerales	0.0036	0.0024	0.06	0.12	0.18	0.24
Resazurina	0.0366	0.12	0.61	1.22	1.83	2.44
Solución Reductora	1.5	5	25	50	75	100
Saliva Artificial total	30	100	500	1000	1500	2000
Líquido Ruminal total	15	50	250	500	750	1000
Medio de Fermentación total (Saliva Artificial 2:1Líquido Ruminal)	45	150	750	1500	2250	3000
Número Frascos-Muestra	1	4	24	49	74	99

(Menke y Steingass, 1988).

Para la creación del “Medio de Fermentación” se siguieron los siguientes pasos:

1- Se colocó un vaso de precipitado en una placa de calefacción y agitación; la capacidad del vaso estuvo sujeta a la cantidad de medio a preparar y al número de frascos.

2- Se agregaron las soluciones descritas anteriormente con sus respectivos volúmenes individuales al frasco de precipitado, manteniendo una temperatura de 39 °C y 600-1000 rpm desde el inicio hasta el final de la preparación de este medio, siguiendo este orden estricto:

1. Agua Destilada.
2. Solución Bufer-Amortiguadora.

3. Solución Macrominerales.
4. Solución Microminerales.
5. Solución de Resarzurina.
6. Solución Reductora.

NOTA: La coloración de la saliva artificial es de color azul (Figura 8a), a este paso, después se gasifico con CO₂ durante un tiempo aprox. de 20 minutos, entonces el color de la solución paso de color azul a rosa claro, siempre se colocó en la superficie y evitando que la manguera que gasifica la saliva artificial se sumerja dentro de esta, para no acidificar la solución. Figura 8b).

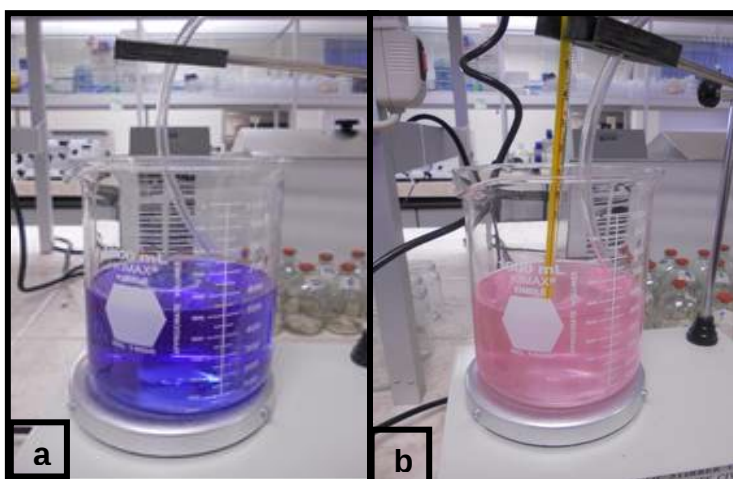


Figura 8. Saliva Artificial antes (azul) y después C (rosa claro) de gasificarse con CO₂.

9.3.1.5 Líquido Ruminal.

El líquido ruminal se obtuvo del sector de bovinos de leche de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de ejemplares sanos y en ayunas, cuya alimentación es de alfalfa, silo y concentrado. Una vez identificados a los 2 o 3

animales donadores del sector a continuación se sujetó al animal donante, se calculó una dosis de hidrocloreuro de xilazina al 2% (Rompun[®]) de 0.10 a 0.33 mg/kg IM. Una vez sedado el bovino estuvo sedado se colocó un abre bocas, posteriormente se introdujo una sonda esofágica por la cavidad oral para extraer el líquido ruminal (Figura 9a). Una vez obtenido el líquido se trasladó en un termo pre-calentado a 39°C al laboratorio del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF), en el laboratorio el líquido ruminal se filtró a través de 2 gasas dobles, los residuos de alimento atrapados en la gasa se licuaron con agua destilada y posteriormente se filtraron con gasas para incorporar al líquido ruminal ya filtrado (Figura 9b). Durante todo este proceso el líquido ruminal también se gasifico con CO₂ y mantenido a una temperatura de 39 °C durante su manipulación. Figura 9c.

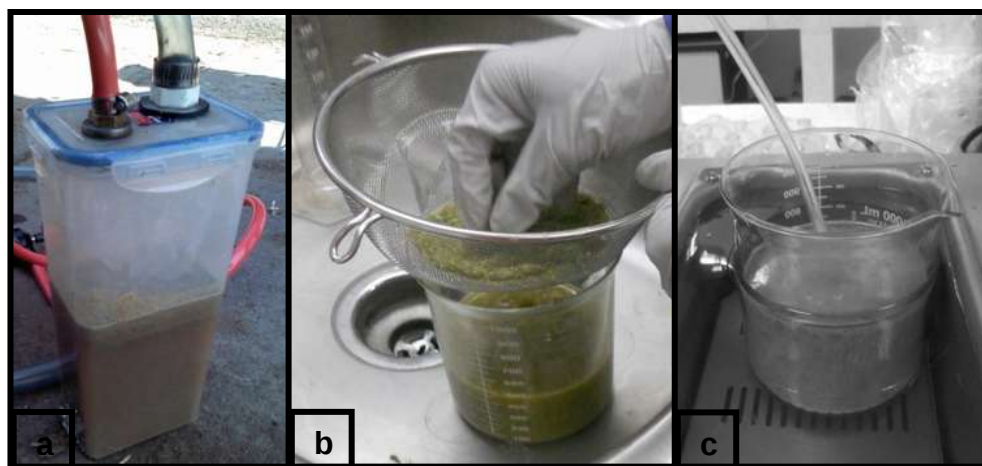


Figura 8. Extracción de Líquido Ruminal, Filtrado y Gasificado con CO₂ (39 °C).

Una vez ya obtenido finalmente la saliva artificial y el líquido ruminal se mezclaron estas 2 soluciones para crear el **Medio de Cultivo ó Inoculo**, en una proporción de 2:1, dos partes de saliva artificial por una parte de líquido ruminal, además siempre se respetó las condiciones de una temperatura 39 °C y gasificación con CO₂ durante todo el proceso. Figura 10.



Figura 9. Medio de Cultivo ó Inoculo.

9.3.2 Elaboración de Frascos-Muestras.

En frascos de vidrio tipo antibiótico con capacidad de 120 ml previo a la inoculación se pesaron 200 mg de Materia Seca por cada muestra (Figura 11a), con sus 3 repeticiones, en seguida a cada frasco se le agrego 30 ml de Medio de Fermentación ó Incubación incluido a los frascos blancos, estos blancos carecían de muestra. De igual manera se sometieron al proceso 2 muestras de alfalfa, una en etapa de prefloración y la segunda en etapa de floración temprana como forraje de comparación. Enseguida se sellaron los frascos con tapa de goma sujeta con

un anillo de aluminio de manera individual (Figura 11b), a continuación se iguala la presión (psi) a cero utilizando el transductor de presión Lutron electronic® modelo PS-9302 (Figura 11c), para después introducirlos a la estufa de cultivo donde se llevó el proceso de incubación a una temperatura de 39 ° C. Figura 11d.



Figura 10. Proceso elaboración de Frascos-Muestras

La producción de gas (ml) y presión (psi) se registró con un transductor Lutron electronic® modelo PS-9302, a las 0, 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 y 96 hrs. después de iniciar la incubación, en cada medición el gas obtenido se liberó y los frascos se agitaron antes de ser devueltos nuevamente a la estufa de cultivo. Los valores totales de gas obtenidos se corrigieron con los blancos. La producción total de gas se ajustó por el modelo de Orskov y Mc Donald (1979) usando la siguiente ecuación:

$$P = a + b (1 - \exp^{-c}).$$

En dónde:

P= volumen de gas (ml) al momento t.

a= producción de gas de la fracción soluble (ml).

b= producción de gas de la fracción insoluble pero fermentable (ml).

a+b=producción potencial de gas (ml) g.

c= tasa constante de producción de gas durante la incubación (ml h^{-1})

9.4 Proceso de Filtrado.

9.4.1 Determinación de fibra detergente neutra (FDN).

Posteriormente terminado las 96 horas de producción de gas, los frascos se abrieron y el contenido restante se pasó a otro frasco de vidrio de cuello más grande con capacidad aprox. 80 ml (Figura 12a), los cuales ya se encontraban previamente identificados, se les adiciono 50 ml de Solución Neutro Detergente (mezcla estandarizada Ankom®). Posteriormente se taparon con papel aluminio, una vez terminado todo estos pasos con cada uno de los frascos individualmente se introdujeron aun autoclave a 115 °C por 50 minutos. Figura 12b.

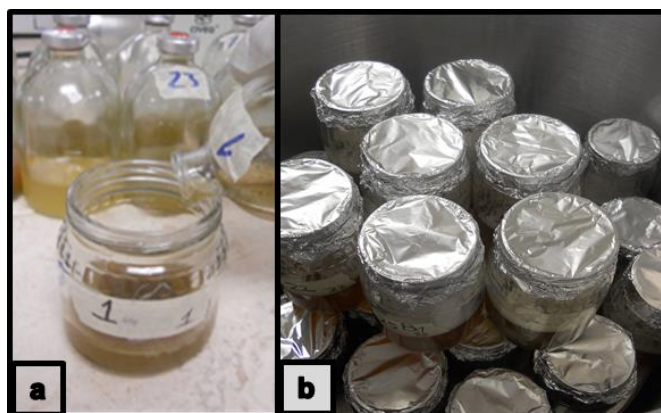


Figura 11. Vaciado de residuos y determinación de FDN del residuo.

Concluido el tiempo, el contenido de los frascos se filtró con un sistema de vacío, el cual estaba formando por matraz kitasato de 250 ml, embudo Buchner y papel filtro Whtaman® grado 54. El residuo de cada frasco recibió 3 baños de 5 minutos cada uno con agua destilada a una temperatura de 90-100°C, seguido de un baño de cetona por 5 minutos. Esto se realizó por cada muestra individual. Figura 13.



Figura 12. Finalización del proceso de filtrado.

Finalizado el proceso de filtrado, el papel filtro junto con la muestra fueron llevados al laboratorio de LAANA donde se determinó la Materia Seca y cenizas, para así obtener la Materia orgánica. Figura 14.



Figura 13. Determinación de cenizas.

Una vez terminado el proceso de filtración los datos obtenidos se procesaron con la fórmula propuesta por Gordon *et al.*, (1980) y Correa (2007), para determinar la digestibilidad *in vitro* de la materia seca:

$$\text{DIVMS, \%} = \frac{(\text{Peso muestra seca} - (\text{Peso residuo} - \text{Peso del blanco})) \times 100}{\text{Peso muestra seca}}$$

En dónde:

DIVMS= Digestibilidad *In Vitro* de la Materia Seca.

Para la determinación de la Materia Orgánica se usó la siguiente formula:

$$\text{DIVMO} = 100 - \text{Cenizas \%}.$$

En dónde:

DIVMO=Digestibilidad *In Vitro* Materia Orgánica.

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis estadístico por análisis de varianza, empleando la diferencia mínima significativa para la comparación de medias. Una correlación simple se usó para la composición química y los parámetros de producción de gas.

10 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Dentro de las comunidades de Téjaro y Santa Ana del Arco después de llevar a cabo la entrevista, solo 7 productores de Santa Ana del Arco y 3 de Téjaro decidieron participar en el proyecto. En la figura 15 se encuentran señalados los puntos donde se llevó a cabo el muestreo de los 10 productores de las dos comunidades.



Figura 14. Sitios de muestreo.

Los productores de esta región desde hace algún tiempo viene utilizando las arvenses como una práctica dentro de la alimentación del ganado, ya que el ganadero siembra parcelas de alfalfa, que al cabo de un tiempo comienzan a ser invadidas por arvenses, entonces el material verde se corta como si fuera parte de la alfalfa y se proporciona al ganado como alimento, de acuerdo con los

ganaderos encuestados funciona también como un medio de control de malezas y como un método de prevención de timpanismo en el ganado. Esta estrategia de usar los recursos naturales (arvenses) al incluirlos junto con el forraje principal que está determinada por experiencias empíricas de los ganaderos. Además los tres productores pertenecientes a la región de Tégaro, también usan un control químico solamente para acabar con el olleto (*Lolium multiflorum*), la frecuencia de aplicación de este herbicida está determinado por su etapa de maduración, ya que lo aplican antes de que este en floración. En el cuadro 11 se aprecian las especies encontradas durante el primer y segundo muestreo en los 10 sitios de muestreo con sus respectivos nombres científicos.

10.1 Periodo de muestreo.

Cuadro 11. Arvenses obtenidas durante el periodo de muestreo.

Nombre Científico	Familia	Nombre común	Primer muestreo	Segundo muestreo
<i>Rumex conglomeratus</i> Murray	Polygonaceae	Juan primero	x	x
<i>Plantago major</i> L.	Plantaginaceae	Oreja de elefante	x	x
<i>Picris echioides</i> L.	Compositae	Lengua de vaca	x	x
<i>Oxalis corniculata</i> L.	Oxalidaceae	Trébol	x	x
<i>Bidens pilosa</i> L.	Compositae	Quelite	x	x
<i>Taraxacum officinale</i> Webb	Compositae	Diente de león	x	x
<i>Sonchus oleraceus</i>	Compositae	Cardo		x
<i>Tithonia tubiformis</i> (Jacq.) Cass	Compositae	Andan		x
<i>Echinochloa cruz-galli</i> P.	Gramineae	Camalote		x
<i>Bidens aurea</i> (Aiton) Sherff	Compositae	Aceitilla		x
<i>Amaranthus hybridus</i> L.	Amarantaceae	Quintonil		x
<i>Tridax coronopifolia</i> (Kunth) Hemsl	Compositae	Rosa maria		x
<i>Lolium multiflorum</i> Lam	Gramineae	Olleto		x

Especímenes identificados por el Herbario de la Facultad de Biología de la UMSNH).

En el **primer muestreo** se llevó en la época previa a las lluvias y comprendió los meses de Marzo-Abril, en este el número de especies encontradas en los 10 sitios de muestreo fueron de 6 especies. El **segundo muestreo** se realizó en la época de lluvias en los meses de Julio-Agosto, el número de arvenses encontradas al muestrear los mismos 10 sitios durante el primer muestreo fue de 13 especies, de estas 13 especies solo 6 se volvieron a repetir con las obtenidas en el primer muestreo, las especies diferentes de las 6 recolectadas son: Rosa Maria (*Tridax coronopifolia*), aceitilla (*Bidens aurea*), andan (*Tithonia tubiformis*), camalote (*Echinochloa cruz*), olleto (*Lolium multiflorum*), quintonil (*Amaranthus hybridus*) y cardo (*Sonchus-oleraceus*).

En el cuadro 12 y la figura 16, se observa el potencial de producción de fitomasa de cada productor de acuerdo a la superficie sembrada de la cual fue muestreada para efecto de este proyecto.

Cuadro 12. Estimación de fitomasa en base fresca (BF) de los cultivos muestreadas.

Productores	Primer muestreo		Segundo muestreo	
	Alfalfa kg/ha	Arvenses kg/ha	Alfalfa kg/ha	Arvenses kg/ha
Productor 1	19,000	1,000	27,631	3,147
Productor 2	18,088	952	27,870	2,130
Productor 3	17,252	908	27,142	1,428
Productor 4	21,040	1,052	20,000	1,052
Productor 5	19,040	1,904	21,176	2,352
Productor 6	16,640	2,496	22,941	1,100
Productor 7	15,808	832	23,375	1,625
Productor 8	15,808	832	18,095	1,053
Productor 9	19,200	800	17,090	1,090
Productor 10	16,800	2,000	16,347	1,043
Total	178,676	12,776	222,667	16,020
Promedio	17,868	1,278	22,267	1,602
Desviación estándar	±1701.45	±614.14	±4221.06	±569.2

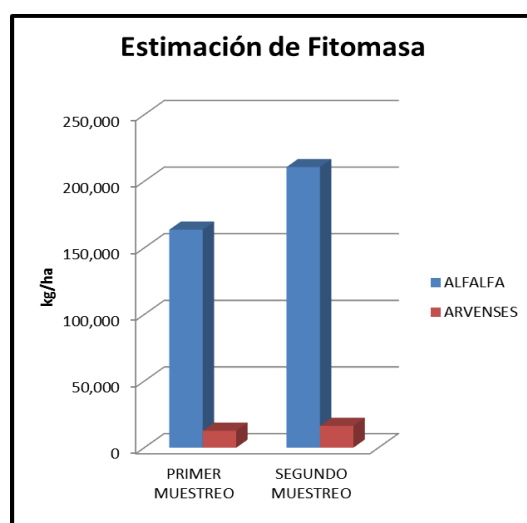


Figura 15. Estimación aproximada de fitomasa.

En el cuadro 12 se observa una diferencia entre el primer y segundo muestreo sobre la estimación aproximada de fitomasa. En el primer muestreo se obtuvo una producción estimada total de 178,868 kg/ha de alfalfa y en el segundo muestreo se obtuvo de 222,667 kg/ha de alfalfa, lo que representa un incremento de 19.76 %. Mientras que la producción estimada total de arvenses en el primer muestreo fue de 12,776 kg/ha de arvenses y el segundo fue de 16,020 kg/ha de arvenses, lo que representó un incremento de 20.25%. En la figura 16 se parecía de manera más amplia la diferencia entre ambos muestreos ya mencionada.

Los forrajes son la base de la alimentación en los sistemas de producción bovina; esto es debido a que los forrajes son alimentos de alta disponibilidad y suficientemente baratos para sostener una industria bovina (Correa, 2007). De los cuales en las localidades de Santa Ana del Arco y Téjaro existe una gran disponibilidad de recursos naturales forrajeros, tal es el caso de las arvenses que se encontraron dentro de los cultivos de alfalfa muestreados para este estudio. Estas arvenses poseen la capacidad de colonizar, prosperar, competir y de persistir en un medio tan intensamente modificado (Urzúa, 2008), junto con condiciones favorables de suelo, clima y grandes volúmenes de agua para el riego de cultivos (Calderón y Rzedowski, 2004), lo cual se observó durante el periodo de muestreo, encontrándose en el primer muestreo 6 especies y en el segundo muestreo 13 respectivamente, así como en la estimación aproximada de la fitomasa donde se obtuvo un incremento del 20.25% del primer al segundo muestreo, identificando al segundo muestreo como la época de lluvias.

Tales características hacen de estas puedan ser aprovechables y por lo tanto se constituyen en una práctica común en los productores de de estas dos localidades. Sin embargo aún, los productores no consideran la oportunidad de poder transformar a una plaga invasora de los cultivos en una especie aprovechable para el ganado lechero, evitando costosos medios de control de malezas (Calderón y Rzedowski, 2004; Villa et al., 2007). Incluso a decir de los productores participantes podrían contribuir a disminuir trastornos como “el timpanismo” causado por el consumo de alfalfa. Caso similar es lo que reporta Martínez et al. (2011). Señalando que los sistemas campesinos del altiplano central mexicano en la época de lluvias existe una gran disponibilidad de recursos naturales forrajeros (plantas que crecen dentro de los cultivos de maíz), que son ampliamente utilizadas para la alimentación del ganado lechero, concluyendo que la inclusión de arvenses resulta en un mayor aporte de proteína cruda a la dieta y en una mayor digestibilidad. Esto implica que los animales deben consumir pasturas que contengan adecuados niveles de nutrientes de alta digestibilidad y que sean eficientemente utilizados para la deposición de tejidos o la producción de leche (Correa, 2007).

10.2 Análisis proximales.

10.2.1 Análisis proximales del primer muestreo y segundo muestreo.

Los resultados obtenidos en los análisis proximales y determinación de las fracciones FDN y FDA realizados a cada una de las especies obtenidas del primer y segundo muestro se muestran en los cuadros 13 y 14.

En el cuadro 13 se observa que las especies de: trébol (*Oxalis corniculata*), Juan primero (*Rumex conglomeratus*) y diente de león (*Taraxacum officinale*), tienen valores superiores al 15% de proteína las demás especies se encuentra debajo de este. En lo referente a la fracción de FDN las especies que poseen más del 40% y no superior al 43% son de nuevo trébol (*Oxalis corniculata*) y Juan primero (*Rumex conglomeratus*), siendo la *Oxalis corniculata* la mejor al poseer 19.69% proteína y 41.25% de FDN. Al cotejar esta con la alfalfa (*Medicago sativa*) prefloración la supera en la fracción PC % por un margen de 0.31 %, pero en FDN ninguna arvenses iguala o supera a alfalfa (*Medicago sativa*).

Cuadro 13. Análisis proximales de las especies obtenidas en el primer muestreo.

Muestra	HUM (%)	MS (%)	EE (%)	PC (%)	CEN (%)	CNET (%)	FDN (%)	FDA (%)
<i>Rumex conglomeratus</i>	79.7	20.27	1.09	18.33	19.23	20.21	41.13	29.76
<i>Plantago major</i>	75.33	24.67	1.10	13.74	19.87	26.19	39.11	26.28
<i>Picris echioides</i>	82.50	17.50	1.97	15.05	18.57	27.01	38.40	25.03
<i>Oxalis corniculata</i>	73.23	24.77	3.35	19.69	13.52	22.18	41.25	25.49
<i>Bidens pilosa</i>	73.23	24.77	0.81	12.69	20.80	28.14	37.56	17.41
<i>Taraxacum officinale</i>	73.77	26.23	3.28	17.59	17.42	23.74	37.96	23.93
<i>Medicago sativa</i> prefloración	75	25	2.8	19.38	10.16	20.93	46.73	23.99
<i>Medicago sativa</i> floración	70.55	29.45	2.8	18.59	10.35	21.15	47.11	23.99

Dónde: HUM(%): Humedad, MS(%): Materia Seca, EE(%): Extracto Etéreo, PC(%): Proteína Cruda, CEN(%): Cenizas, ELN(%): Extracto Libre de Nitrógeno, CNET(%): Carbohidratos no Estructurales Totales. FDN(%): Fibra Detergente Neutra y FDA(%): Fibra Detergente Ácida.

En el cuadro 14 de los datos obtenidos se aprecia que de las 13 especies solo 3 lo que representa el 23.07%, su nivel de proteína se encuentra debajo del 15%, siendo olleto (*Lolium multiflorum*) la especie con menor porcentaje con un 13.12%. Mientras que las especies de mayor porcentaje son trébol (*Oxalis corniculata*), aceitilla (*Bidens aurea*), andan (*Tithonia tubiformis*) y Juan primero (*Rumex conglomeratus*), superando a la alfalfa (*Medicago sativa*) prefloración y floración respectivamente. Las especies restantes que comprende el 53.86% se encuentra en el rango de 15% a 20% de proteína cruda.

En lo referente a la fracción de FDN las especies olleto (*Lolium multiflorum*) y camalote (*Echinochloa cruz*) tiene niveles superiores al 65%. Y de las 9 especies restantes, solamente 3 (23.07 %) poseen valores muy similares con la alfalfa

(*Medicago sativa*) prefloración y floración. Las restantes se encuentran en un porcentaje inferior.

Cuadro 14. Análisis proximales de las especies obtenidas en el segundo muestreo.

Muestra	HUM (%)	MS (%)	EE (%)	PC (%)	CEN (%)	CNET (%)	FDN (%)	FDA (%)
Rumex conglomeratus	90.07	9.93	0.88	19.95	15.58	16.78	46.79	30.23
<i>Plantago major</i>	87.43	12.57	0.45	17.5	18.55	20.12	43.36	28.32
<i>Picris echioides</i>	90.46	9.54	2.03	16.99	19.27	18.64	43.05	26.92
<i>Oxalis corniculata</i>	84.03	15.97	0.92	24.28	10.47	19.46	44.86	29.53
<i>Bidens pilosa</i>	87.54	12.46	0.65	18.72	20.10	21.86	38.66	16.84
<i>Taraxacum officinale</i>	89.89	10.11	2.09	17.85	18.31	16.35	45.40	27.74
<i>Lolium multiflorum</i>	72.05	27.94	0.81	13.12	9.94	10.29	65.82	32.71
<i>Tithonia tubiformis</i>	85.88	14.12	1.01	20.60	18.98	15.29	44.10	26.12
<i>Echinochloa cruz</i>	81.61	18.39	1.12	13.65	12.20	6.08	66.93	33.95
<i>Bidens aurea</i>	89.23	10.77	0.89	20.62	16.44	13.48	48.54	25.63
<i>Amaranthus hybridus</i>	86.47	13.53	0.77	18.59	16.47	16.82	47.33	29.28
<i>Tridax coronopifolia</i>	89.7	10.3	1.94	15.18	16.8	23.35	42.72	32.80
<i>Sonchus-oleraceus</i>	73.23	26.77	2.77	13.17	15.33	31.19	37.54	22.99
<i>Medicago sativa</i> prefloración	70.55	29.45	2.8	19.38	10.16	20.93	46.73	23.99
<i>Medicago sativa</i> floración	75	25	2.8	18.59	10.35	21.15	47.11	23.99

Dónde: HUM(%): Humedad, MS(%): Materia Seca, EE(%): Extracto Etéreo, PC(%): Proteína Cruda, CEN(%): Cenizas, ELN(%): Extracto Libre de Nitrógeno, CNET(%): Carbohidratos no Estructurales Totales. FDN(%): Fibra Detergente Neutra y FDA(%): Fibra Detergente Acida.

Se debe entender que los análisis químicos no proveen un estimador directo de valor nutritivo, la composición química de un alimento es solamente indicativa de su contenido de nutrimentos más no de su disponibilidad para el animal. Por lo

que estos análisis debieran ser complementados con análisis dinámicos de fermentación ruminal (Colombatto, 2003). Ya que algunas especies obtuvieron resultados iguales e incluso superiores a los obtenidos por alfalfa (*Medicago sativa*) pero que porcentaje del total de la proteína cruda corresponde a la degradada en rumen y al pasaje. Con el fin de tratar de entender más acerca de las interacciones de esto se han hecho algunas clasificaciones en base a pruebas de laboratorio, por lo que la Proteína de alimentación se divide en tres fracciones: “A” Nitrógeno no proteico (NPN) amoníaco, péptidos, aminoácidos son rápidamente convertido a amoníaco en el rumen. “B” proteína verdadera con un total de N 60-80% y “C” proteína no disponible ya que es proteína asociada a la lignina, complejos tanino-proteína resistentes a las enzimas microbianas (Van Soest et al., 1981; Cherney, 2004).

10.3 Producción de gas.

El estimador más comúnmente usado para evaluar el valor nutritivo (calidad de forrajes) de un forraje es su **digestibilidad** (Contreras *et al.*, 2004; Di Marco, 2011). Van Soest (1994) menciona que la digestibilidad verdadera representa la parte del alimento disponible para la digestión (desaparece) por enzimas de origen animal o microbiano en su paso por el tubo gastrointestinal. Ha sido estimado que entre el 25 y el 50% de la variación en la respuesta productiva de los animales que consumen forrajes se debe a su digestibilidad (Mertens, 2000). Por lo que existen factores propios del forraje y el animal que causan este porcentaje de variación.

Por lo que con el paso de los años los investigadores han desarrollado técnicas y métodos para así tratar de obtener una digestibilidad más apegada a la real.

10.3.1 Producción de gas de especies del primer muestreo.

Los resultados obtenidos durante las 96 horas que duró la producción de gas (0, 3, 6, 9, 12, 24, 32, 48, 76 y 96 horas), de cada una de las especies del primer muestreo se muestra en la figura 17, y en el cuadro 15 se aprecia los parámetros de cinética de fermentación de producción de gas in vitro.

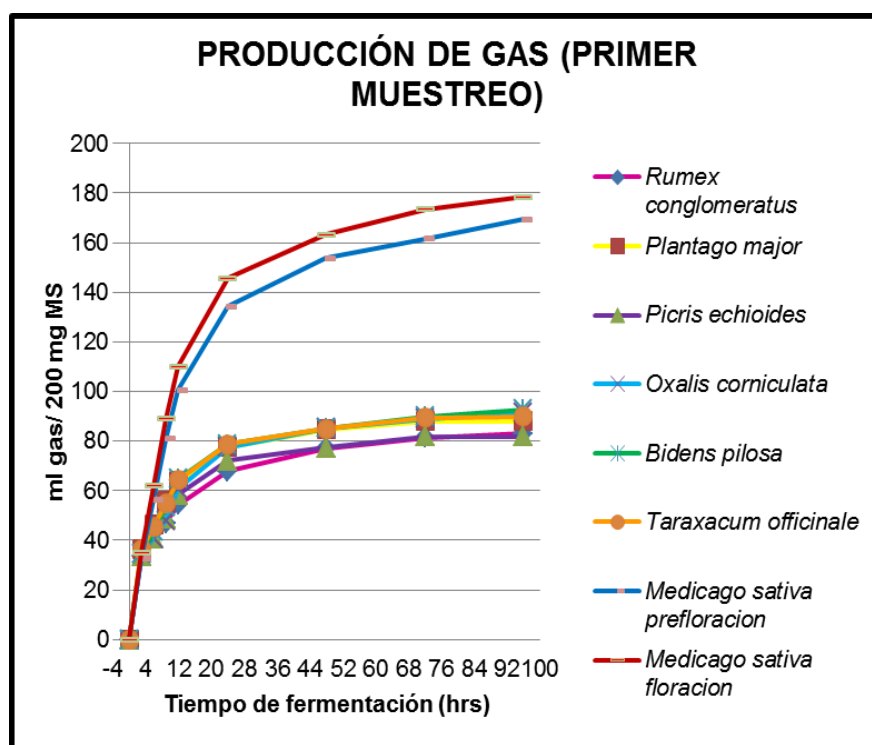


Figura 16. Producción de gas del primer muestreo.

En la figura 17 se observa que todos tienen una tendencia progresiva desde la hora "0", y la producción de gas entre las distintas especies de arvenses es muy

similar, pero al llegar a las 24 horas es donde se puede observar una diferencia de estas, oreja de elefante (*Picris echioides*) y Juan primero (*Rumex conglomeratus*) empiezan a tener un crecimiento por debajo de las restantes las cuales sigue poseyendo un aumento. En comparación con el forraje de estudio de la alfalfa (*Medicago sativa*) de todas las arvenses ninguna sobre pasa los 100 ml gas/ 200mg MS al término de las 96 hrs. Mientras que *Medicago sativa* en floración temprana llega aproximadamente a los 180 ml gas/ 200mg MS.

Los resultados de la cinética de fermentación se presentan en el Cuadro 16, en el cual se aprecia que Juan primero (*Rumex conglomeratus*) es el mayor en la fracción “a” y en el extremo opuesto se encuentra la Alfalfa (*Medicago sativa*). En la fracción “b” se aprecia que la Alfalfa es indiscutiblemente la superior a las demás especies. Además se observa que la alfalfa posee una digestibilidad de aproximadamente el 90 %, siendo oreja de elefante (*Picris echioides*) la más próxima este valor al poseer 86.83%.

Cuadro 15. Parámetros de cinética de fermentación de producción de gas in vitro por especie del primer muestreo.

ESPECIE	a (ml gas/ g MS)	E.E.	b (ml gas/ g MS)	E.E.	c (ml/ h ⁻¹)	E.E.	DIVMS %	DIVMO %
<i>Rumex conglomeratus</i>	25.46	1.789	56.9	1.712	0.056	0.005	76.5	97.5
<i>Picris echioides</i>	19.87	2.487	61.33	2.406	0.079	0.006	86.83	96.33
<i>Taraxacum officinale</i>	21.66	2.793	67.23	2.704	0.078	0.007	65	89.5
<i>Plantago major</i>	22.4	2.315	65.58	2.242	0.079	0.006	81.16	97.66
<i>Oxalis corniculata</i>	19.79	2.973	70.35	2.862	0.066	0.006	70.66	92.66
<i>Bidens pilosa</i>	19.44	3.744	70.81	3.623	0.076	0.008	78.5	96.5
<i>Medicago sativa</i> prefloración	0.013	3.916	173.54	3.787	0.078	0.004	93.4	92.16
<i>Medicago sativa</i> floración	0	3.723	173.59	3.605	0.078	0.003	90.28	94.16

Fracción a= Producción de gas fracción soluble. Fracción b= Producción de gas de la fracción fermentable. Fracción c= Tasa constante de producción de gas durante incubación. E.E.: Estimación del error. DIVMS= Digestibilidad *in vitro* de la Materia seca. DIVMO= Digestibilidad de la Materia Orgánica.

En la figura 18 se puede observa que existe una alta asociacion entre las variables **presion** (psi) y **volumen** (ml) de gas producidos durante el experimento de las arvenses del primer muestreo, ya que se tuvo una R² de 0.98. Además de obtenerse la ecuacion $y=18.356x+0.6551$.

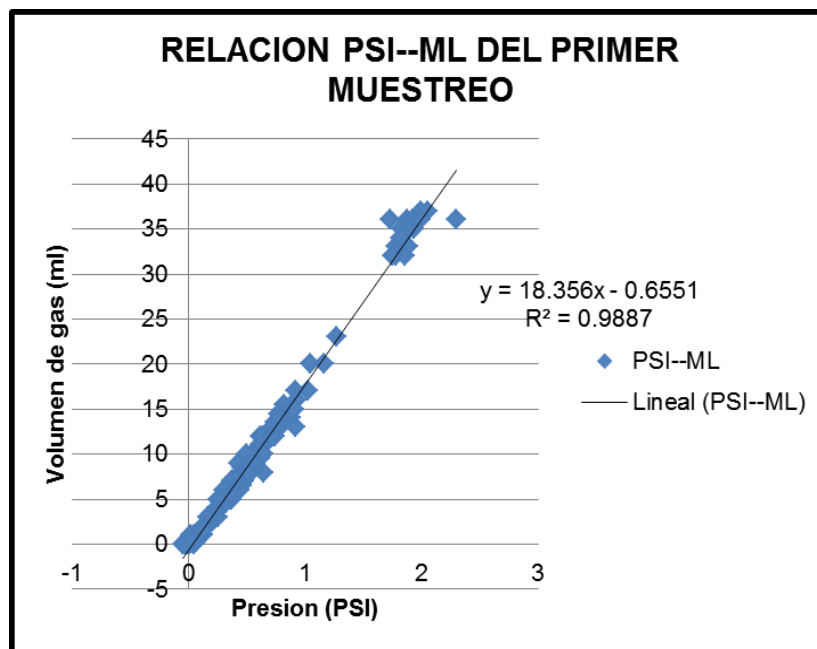


Figura 17. Coeficiente de determinación de las especies del primer muestreo.

10.3.2 Producción de gas de especies del segundo muestreo.

En la figura 19 se observa que de manera similar que las arvenses del primer muestreo tienen una tendencia progresiva desde la hora "0", ahora también se nota una clara diferencia en la producción de gas entre las especies de arvenses, 4 de ellas que representan el 13.76% correspondientes a cardo (*Sonchus oleraceus*), Rosa María (*Tridax coronopifolia*), quintonil (*Amaranthus hybridus*) y trébol (*Oxalis corniculata*) se encuentran con una producción final de gas entre el 80 y 100 ml gas/ 200mg MS. Mientras el restante de las especies (86.24%) no supera los 60 ml gas/ 200mg MS. En comparación con alfalfa (*Medicago sativa*) con todas las arvenses se vuelve a observar de manera similar la superioridad de ésta en comparación de las arvenses mostrada en el primer muestreo. Con una

producción final de *Medicago sativa* en floración temprana llegando aproximadamente a los 180 ml gas/ 200mg MS.

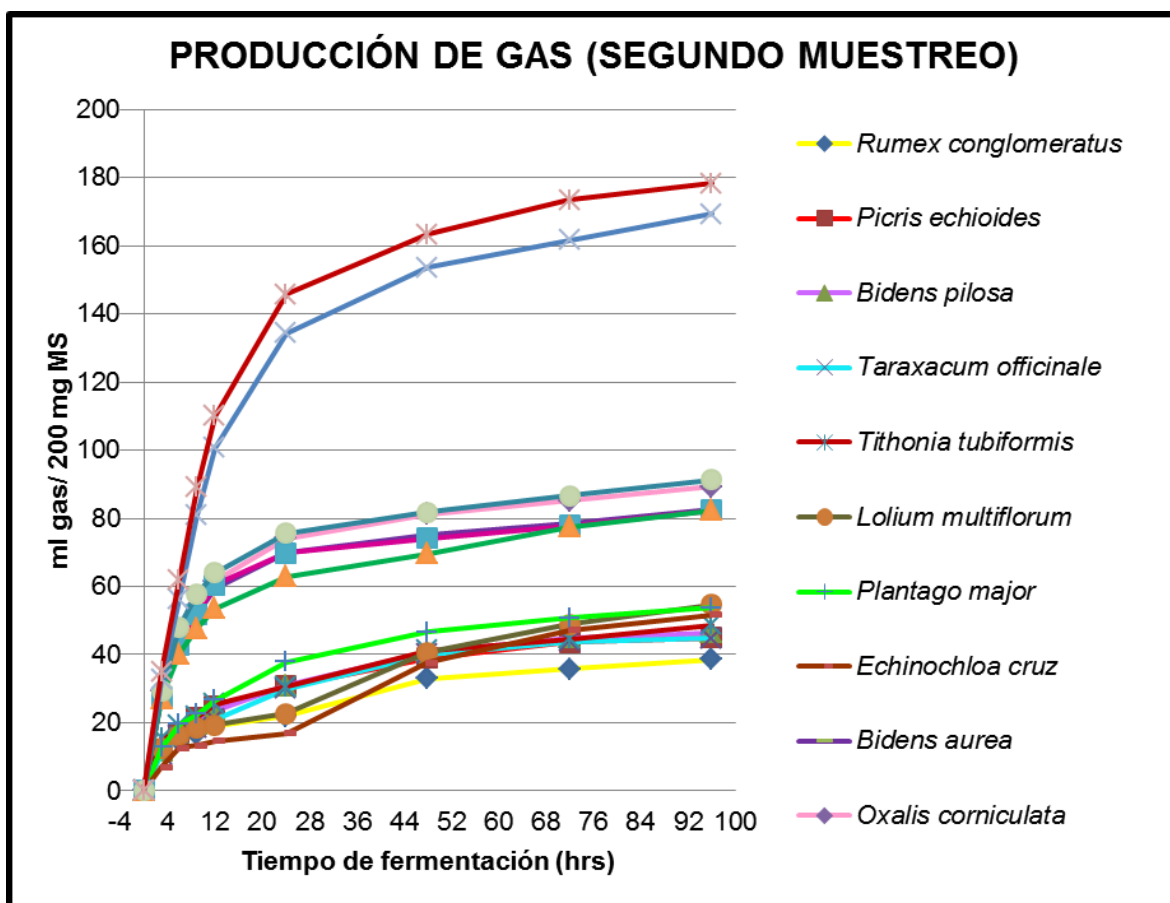


Figura 18. Producción de gas del segundo muestreo.

Los resultados de la cinética de fermentación se presentan en el Cuadro 16, en el cual se aprecia que Rosa Maria (*Tridax coronopifolia*) es la mayor en la fracción “a” y la Alfalfa (*Medicago sativa*) se encuentra nuevamente en el último lugar comparada con las demás especies. En la fracción “b” se aprecia que la Alfalfa es la superior a las demás especies y en segundo lugar se encuentra el camalote

(*Echinochloa cruz*). Además se observa que la alfalfa posee una digestibilidad de aproximadamente el 90 %, y especie de quintonil (*Amaranthus hybridus*) posee el valor menor de digestibilidad al poseer 58.83% incluso comprado con el primer muestreo.

Cuadro 16. Parámetros de cinética de fermentación de producción de gas in vitro por especie del segundo muestreo.

ESPECIE	a (ml gas/ g MS)	E.E.	b (ml gas/ g MS)	E.E.	c (ml/ h ⁻¹)	E.E.	DIVMS %	DIVMO %
<i>Rumex conglomeratus</i>	10.256	1.045	31.701	2.019	0.023	0.005	84.66	97.66
<i>Picris echinoides</i>	9.414	1.625	35.758	1.597	0.041	0.006	81.66	94.66
<i>Bidens pilosa</i>	8.265	3.579	39.014	3.608	0.038	0.013	82.16	94.66
<i>Taraxacum officinale</i>	7.144	1.929	38.953	1.957	0.038	0.007	89	96.833
<i>Tithonia tubiformis</i>	13.295	1.023	37.188	1.426	0.028	0.004	86.66	98.33
<i>Lolium multiflorum</i>	10.994	1.513	71.585	18.264	0.01	0.004	79	97.66
<i>Plantago major</i>	8.252	8.1	45.079	7.843	0.043	0.025	64.5	84.66
<i>Echinochloa cruz</i>	5.605	1.373	75.87	16.089	0.01	0.004	88	98.5
<i>Bidens aurea</i>	10.55	3.108	67.837	3.021	0.103	0.008	60.33	93.66
<i>Oxalis corniculata</i>	14.353	2.863	71.11	2.779	0.086	0.007	63.33	94.83
<i>Amaranthus hybridus</i>	9.86	3.12	67.976	3.033	0.106	0.008	58.83	93.66
<i>Tridax coronopifolia</i>	20.601	3.112	57.248	2.991	0.063	0.008	60.5	94.5
<i>Sonchus oleraceus</i>	12.563	4.585	73.597	4.456	0.099	0.011	64.33	92.66
<i>Medicago sativa</i> pre floración	0.013	3.916	173.547	3.787	0.078	0.004	93.4	92.16
<i>Medicago sativa</i> floración	0	3.723	173.597	3.605	0.078	0.003	90.28	94.166

Fracción a= Producción de gas fracción soluble. Fracción b= Producción de gas de la fracción fermentable. Fracción c= Tasa constante de producción de gas durante incubación. E.E.: Error estimado. DIVMS= Digestibilidad *in vitro* de la Materia |seca. DIVMO= Digestibilidad de la Materia Orgánica.

En la figura 33 se observa que existe una alta asociación entre las variables **presión** (psi) y **volumen** (ml) producidos durante la producción de gas de las arvenses del segundo muestreo, ya que se tuvo una R^2 de 0.99. Además de obtenerse la ecuación $y=7.789x+0.1339$.

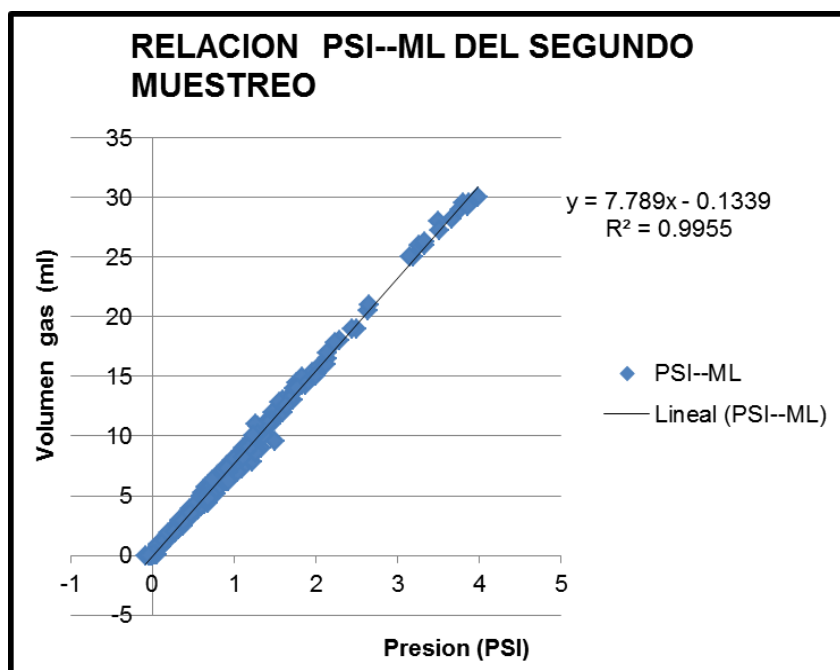


Figura 19. Coeficiente de determinación de las especies del segundo muestreo.

Di Marco (2011), señala que independientemente de la metodología utilizada para evaluar la calidad; un forraje de calidad debiera tener aproximadamente 70% de digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), menos de 50% de fibra detergente neutra (FDN) y más de 15% de proteína bruta (PB). Uno de baja calidad pose menos del 50% DIVMS, más del 65% FDN y PB menos del 8%. De los resultados obtenidos del primer muestreo Juan primero (*Rumex conglomeratus*), lengua de vaca (*Picris echinoides*) y trébol (*Oxalis corniculata*) cumplen con los aspectos, oreja de elefante (*Plantago major*) y quelite (*Bidens pilosa*) se encuentran por debajo del nivel de proteína. Mientras que para el segundo muestreo de nuevo cumpliendo los 3 aspectos están *Rumex conglomeratus* y *Picris echinoides*, las especies de olleto (*Lolium multiflorum*) y camalote (*Echinochloa cruz*) pose menos de 15 % de proteína y más de 60% de

FDN, sin embargo, estas 2 ultimas especies contrastan los valores que indican una calidad menor, por que observaron una DIVMS arriba del 70%, esto hace necesario hacer más evaluaciones de estas especies para poder confirmar su verdadero valor nutricional, ya que de manera proporcional estas especies tiene una mayor proporción de hemicelulosa sí se considera la diferencia del valor de FND y FAD.

La DIVMS de alfalfa (*Medicago sativa*) en prefloración fue 93.4% y en floración temprana fue 90.28, la cual ninguna arvense pudo igualar o superar, pero algunas estuvieron en un rango de 80% a 89%, siendo *Picris echinoides* la especie que tuvo más de 80% DIVMS en los 2 los periodos de muestreo.

Martínez *et al.* (2011). Llevaron un estudio acabo en épocas de lluvias en el valle de Toluca en los meses de agosto a octubre, de las especie reportadas, 2 coinciden con las encontradas en este proyecto *Tithonia tubiformis* y *Tridax coronopifolia*, haciendo la comparación poseen en promedio 7.11 PC%, 59.78 FDN %, 39.53 FDA% y 55.85 DIVMS %, los promedios de estas 2 especies en este estudio fueron de 35.78 PC%, 43.41 FDN%, 29.46 FDA% y 73.58 DIVMS%. Se observa que poseen niveles bajos de proteína y digestibilidad, se podría suponer ya que tiene porcentajes FDN y FDA altos que disminuyen su digestibilidad de acuerdo a la clasificación planteada, ya que los forrajes de baja calidad son demasiado altos en fibra total y tienden a tener tasas de fermentación apenas suficientes para alimentar a las bacterias del rumen cerca de sus necesidades de mantenimiento (Van Soest, 1994).

Cuadro 17. Correlaciones entre los valores nutricionales y los parámetros del modelo de Orskov y McDonald (1979)

Parámetros de producción de gas <i>in vitro</i>			
	a	b	c
HUM %	-0.127	-0.612**	-0.277
MS %	0.110	0.628**	0.281
EE %	-0.003	0.458*	0.329
PC%	-0.203	0.037	0.160
CEN %	0.478	-0.659**	-0.053
CNET %	0.441*	0.094	0.568**
FND%	-0.466*	0.159	-0.500*
FAD%	-0.108	0.021	-0.340
a	--	-0.454*	0.129
b	-0.454*	--	0.448*
c	0.129	0.448*	--

Dónde: HUM(%): Humedad, MS(%): Materia Seca, EE(%): Extracto Etéreo, PC(%): Proteína Cruda, CEN(%):Cenizas, ELN(%):Extracto Libre de Nitrógeno, CNET(%): Carbohidratos no Estructurales Totales. FDN(%):Fibra Detergente Neutra, FDA(%):Fibra Detergente Acida, a= Fracción soluble rápidamente degradable (ml gas/g MS), b= fracción insoluble pero potencialmente degradable (ml gas/g MS), c= tasa constante de producción de gas durante la incubación (ml/h).** (P<0.01) bilateral, *(P<0.05) bilateral.

En el cuadro 18 se observa que la fracción soluble “a” la cual está representada por ácidos orgánicos, pectinas y CNE con una digestibilidad 98-100 % (Van Soest, 1991). De los CNE corresponden “A” azúcares, “B1” almidones en función de su degradación en el rumen (Sniffen *et al.*, 1992). La correlación positiva que se observa es con CNET% $P < 0.05$ ya que son los primeros en ser consumidos por la microbiota ruminal, mientras que negativas se relacionó con FND% ($P < 0.05$), ya que la planta al aumentar su madurez el porcentaje de lignificación también crece, de esta manera encapsula los carbohidratos. La fracción a y b guardan una estrecha relación debido a que la suma de ambas expresan el potencial total de producción de gas. En esta fracción las especies del primer muestreo obtuvieron valores más altos de 19.44-25.46, en comparación con el segundo muestreo presentando valores inferiores de 7.14-20.60, siendo *Plantago major* el que obtuvo una determinación de error mayor de todas las especies (± 8.1). Mientras que *Medicago sativa* tuvo los valores más inferiores 0.013.

Fondelvila y Barrios (2001). Señalan que la ecuación de Orskov y Mc Donald asume una evolución exponencial, con una fracción soluble (que carece de sentido en incubaciones *in vitro*). Esto se debe a que la fracción “a” dentro de las fases de la curva (lag) es la primera etapa donde la microbiota ruminal de los frascos se adapta y se adhiere al nuevo alimento, ya que de forma natural el 75% de las bacterias se encuentra adherida a las partículas de alimento (Mc Donald, 2011). Esta fase lag comprende de 8 a 12 horas (Orskov, 2004).

La fracción “b” que es la insoluble pero potencialmente degradable corresponde a los carbohidratos “B2”, estructuralmente disponibles (pared celular) y “C” porción

no disponible de los carbohidratos no estructurales (Sniffen *et al.*, 1992). Ya que al igual que la proteína se someten a un proceso de lignificación con la madures de la planta. La composición molecular de esta fracción varía entre tipos de células, tejidos y especies de plantas; una aproximación de peso seco podría ser 30% de celulosa, 25% de hemicelulosa, 35% de pectina y un 10% de proteína (Segura, *et al.*, 2007). Se obtuvo una correlación de $P < 0.01$ con la MS% y de manera negativa con CEN%, ya que a mayor porcentaje de estas se tiene un mayor porcentaje de Materia orgánica la cual es la que posee todos los componentes nutricionales que participan en la producción de gas. Pose también una correlación la fracción “c” la tasa constante de producción de gas (ml/h). Lo que resulta importante es la correlación existente con EE% de $P < 0.05$. En el rumen la mayoría de los lípidos (más del 95%) son hidrolizados por los microorganismos (hidrolasas bacterianas), ya que el 70% de los triglicéridos se hidrolizan en la hora siguiente a su ingestión, separándose los enlaces entre el glicerol y los ácidos grasos (Van y Regueiro, 2008). En esta fracción la alfalfa (*Medicago sativa*) es la que posee un valor de 173.547, que es un valor muy por encima de lo obtenido de las arvenses, esto se podría deber a su relación con factores propios de la planta en su relación maduración y tallo-hojas.

Son una serie de factores climáticos que interviene en el desarrollo y maduración de la planta, y por lo tanto en la composición y el valor nutritivo (Nelson and Moser, 1974). En la región que se llevó el proyecto es de clima templado en el cual la planta a principios del año para sobrevivir al frío su metabolismo entra en un periodo de latencia característico en las hierbas perenes, al estar en este

estado planta retrasa su estado de desarrollo y madurez, sobreviviendo con sus reserva de energía, las reservas de nutrientes son esenciales para la supervivencia durante los períodos fríos para apoyar el nuevo crecimiento después de condiciones climáticas adversas, la defoliación, el pastoreo o corte (Van Soest, 1994). En la primavera la luz y la temperatura en aumentan, lo que resulta en asociaciones positivas entre la temperatura, los hidratos de carbono y la producción de lignina. Estas asociaciones se alteran en pleno verano, cuando los patrones de luz y la temperatura se invierten (Buxton and Fales, 1974). Despierta el metabolismo de la planta, se reactiva el proceso de maduración de la planta el cual había sido frenado, por lo cual los niveles de proteína empiezan a descender y FDN-FDA aumentar por el rápido periodo de madurez de la planta. La variación de agua entre épocas también afecta el desarrollo, ya que una disminución de agua tiende a retardar el desarrollo de la planta y por lo tanto para frenar la madurez, con el resultado de que la digestibilidad se aumenta algo y rendimientos de materia seca (Buxton y Fales, 1974). Lo cual se observa ampliamente al comparar las especies entre muestreo donde los porcentajes de materia seca fueron mayores en el primer muestreo que en el segundo.

Otro factor es la especie (relación tallo-hoja), también juega un papel al diferenciar al grupo de gramíneas de las leguminosas anatómicamente, por lo que podría suponerse por ejemplo en el olleto (*Lolium multiflorum*) y camalote (*Echinochloa cruz*), al poseer una proporción mayor de tallo que de hoja (gramínea). Las especies Juan primero (*Rumex conglomeratus*) y oreja de elefante (*Plantago major*) tiene un sistema radicular de raíz como la alfalfa así como una relación de

hoja mayor que de tallo. Todos estos factores podrían explicar el por las arvenses tuvieron valores similares y algunos superiores en los proximales que la alfalfa (*Medicago sativa*). Pero en la cinética de fermentación la alfalfa fue superior al tener una DIVMS 90%, se podría suponer a su relación mayor de hojas sobre tallo, además porque el tallo madura de forma independiente de las hojas, Van Soest (1994) reporta de un estudio hecho a lo largo de un año observaron que la DIVMS se conservaba entre un 70 a 80 %, mientras el tallo al aumentar su madurez su digestibilidad disminuía.

En lo referente a la tasa constante de producción de gas “c”, tuvo una correlación ($P < 0.01$) con los CNE% ya que son lo de más rápida degradación en tanto que la relación con la FDN% fue de $P < 0.05$, debido a que ocupa del trabajo en conjunto de toda la microbiota Ruminal para poder degradar las paredes celulares a sus componentes mas sencillos.

11 CONCLUSIONES.

- Del periodo de muestreo de la región se identificaron y clasificaron Taxonómicamente 13 especies presentes en los cultivos de *Medicago sativa*.
- En general las arvenses presentan valores nutricionales aceptables, en particular las especies *Rumex conglomeratus*, *Oxalis corniculata*, *Titonia tubiformis* y *Bideus aurea* principalmente en cuanto a su contenido de proteína sí se compara con la especie *Medicago sativa*, además que estas especies estuvieron presentes en las dos épocas de muestreo. Así mismo *Rumex congloeratus* y *Bidens aurea* fueron las que observaron mejores valores de digestibilidad *in vitro* fueron, sí se comparan con los valores obtenidos por *Medicago Sativa*.
- En general la mayoría de las especies evaluadas tuvieron valores por arriba de 50% de digestibilidad, lo que las hace un recurso importante a considerar en las estrategias de alimentación de los sistemas ganaderos a pequeña escala en la región de estudio.
- La información obtenida podrá ayudar a plantear mejores prácticas sobre su aprovechamiento en las estrategias de alimentación y así poder hacer uso eficiente de los recursos forrajeros naturales de la región

- Sin embargo, aún son pocos los estudios de estas especies por lo que es necesario generar más datos que permitan confirmar los valores encontrados por este trabajo y tener una mayor certeza en la información que se les aporte a los productores. Pero es importante el considerar que la incorporación de las arvenses en la dieta del ganado representa una alternativa viable en particular para sistemas con bajos recursos.

12 BIBLIOGRAFIA.

- Antolín, D. M., González, R. M., Goñi, C. S., Domínguez, V. I. A. y Ariciaga, G. C. 2009. Rendimiento y producción de gas in vitro de maíces híbridos conservados por ensilaje o henificado. *Técnica pecuaria México*. 47(4): 413-423.
- Bruni, M. A. y Chilbroste, P. 2001. Simulación de la digestión ruminal por el método de producción de gas. Universidad de la república. Facultad de agronomía. Uruguay. 9(1):43-51.
- Caamal, M. J. A. 2004. Técnicas de muestreo para manejadores de recursos naturales. 1ª ed. Ed. UNAM-Posgrado DGEP. México. p. 346-362.
- Calderón, R. J. Y Rzedowski. J. 2004. "Manual de malezas de la región de Salvatierra, Guanajuato. Instituto de Ecología A.C. Centro Regional del Bajío. Fascículo complementario XX. 315 p.
- Cantero, M. E. y Demanet, F. R. 2008. Métodos directos e indirectos para la medición de fitomasa de una pradera- Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de La Frontera. (En línea). http://praderasypasturas.com/files/menu/catedras/praderas_y_pasturas/2012/17-Laboratorio-Medicion-de-Praderas.pdf. (consulta: 20 de Septiembre del 2012).
- Capetillo, L. C. M., Herrera, P. E. y Sandoval, C. A. C. 2002. Composición química de *Boerhavia erecta*, digestibilidad y producción de gas in vitro. *Archivos de zootecnia*. España. 51(196): 461-464.

- Catalina, S. G. M. 2002. Comparación entre métodos de estimación de disponibilidad de materia seca en praderas naturales de la VI Región. (Tesis de licenciatura). Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Santiago, Chile.
- Cascante, M. A. 2008. Guía para la recolecta y preparación de muestras botánicas. Museo Nacional de Costa Rica. 1: 1-10.
- Colombatto, D. 2003. Análisis de alimentos: aplicaciones prácticas. Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos. 1:1-10.
- Contreras, J. J. L.; Juárez, L. F. I. y Montero, L. M. 2004. Manual de laboratorio, determinación de la tasa de digestión en forrajes. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Veracruz. 1:1-13.
- Correa, C. H. J. 2008. Métodos para la evaluación nutricional de forraje. Departamento de producción animal, Universidad Nacional de Colombia. 1:1-23.
- Cunningham, J. G. 1999. Fisiología veterinaria. 2ª ed. Ed. McGRAW-HILL. México, D. F. p.373-405.
- Cherney, D.J.R. 2004. Characterization of forages by chemical Analysis. Department of Animal Science, New York State College of Agriculture and LifeSciences. Ithaca, N.Y. (1):281-301.
- Di Marco, O. 2011. Estimación de la calidad de los forrajes. Producir XXI-producción animal. Buenos Aires. 20(240):24-30.

- Frandson, R. D. y Spurgeon, T. L. 1995. Anatomía y fisiología de los animales domésticos. 5ª ed. Ed. Interamericana. México, D. F. p. 342-345.
- Fondevila, M. y Barrios, A. 2001. La técnica de producción de gas y su aplicación al estudio del valor nutritivo de los forrajes. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 35 (3):197-211.
- Fundación para la innovación agraria. 2004. Mejores prácticas de pastoreo. Informativo Técnico. 1. p.1-2.
- Héctor, C. J. 2007. Métodos para la evaluación nutricional de forrajes. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. (En línea).www.biblioteca.cotecnova.edu.co. (consulta: 21 de junio del 2011).
- Juárez, R. Cerrillo, S. A. S. Gutiérrez O. M. A. Romero, T. E. Colín, N. E. M. Bernal, B. J. 2009. Estimación del valor nutricional de pastos tropicales a partir de análisis convencionales y de la producción de gas in vitro. Técnica Pecuaria en México. 47 (1). p. 55-67.
- Mc Donald, P.; Edwards, R. A.; Greenhalgh, J. F. D.; Morgan, C. A. and Sinclair, L. A. 2011. Animal nutrition. 7th ed. Ed. Pearson. USA. p. 156-189.
- Martínez, L.R.; Castelán O. O. A.; González. R. M. y Estrada, F. J.G. 2011. Determinación de la calidad nutritiva, fermentación *in vitro* y metabolitos secundarios en arvenses y rastrojo de maíz utilizados para la alimentación del ganado lechero. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 14: 525-536.
- Makkar, H. 2001. Recent advances in in vitro gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. (En línea).

http://www.fao.org/DOCREP/ARTICLE/AGRIPPA/570_EN_toc.htm.

(consulta: 20 de Febrero del 2012).

- Menke, K. H. and Steingas, 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: 1-5.
- Mertens D. R. 2000. Interpretation of Forage Analysis Reports. In: 29th National Alfalfa Symposium Proceedings & 30th California Alfalfa Symposium. Las Vegas, Nevada, California, Department of Agronomy and Range Science Extension, University of California, Davis. 14:1-12.
- Ortiz, S. J. A.; García, T. O. y Morales, T. G. 2005. Manejo de bovinos productores de leche. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. (En línea). mvz.unipaz.edu.co. 20 de junio del 2011.
- Ørskov, E. R. 2004. The In Situ Technique for the Estimation of Forage Degradability in Ruminants. International Feed Resource Unit Rowett Research Institute. Bucksburn. UK. (1): 187-201
- Pedraza, O. R. M., 1998. Use of *in vitro* gas production technique to assess the contribution of both soluble and insoluble fractions on the nutritive value of forages. Universidad de Camaguey. Cuba.
- Posada, S.L. y Noguera, R. R. 2005. Técnica in vitro de producción de gases: una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. Universidad de Antioquia. Facultad de ciencias agrarias. Colombia. 17(4): 1-8.

- Reinoso, O. V. y Soto, S. C. 2006. Calculo y manejo en pastoreo controlado, III) pastoreo por horas, determinación de la disponibilidad y crecimiento de la pastura. Revista veterinaria Montevideo. 41 (161-162): 25-30.
- Rihehart, L. 2008. Servicio Nacional de Información de Agricultura Sostenible. Nutrición para Rumiantes en Pastoreo. (En línea). www.attra.ncat.org/espanol/pdf/rumiantes.pdf (consulta: 20 de junio del 2011).
- Rodríguez, a. J., Gutiérrez, O. E. y Rodríguez, F. H. 2010. Dinámica de sistemas de pastoreo. 1ª ed. Ed. Trillas. México, D. F. p. 31-44.
- Sallam, S. M. A. A. 2005. Nutritive value assessment of the alternative feed resources by gas production and rumen fermentation *in vitro*. Faculty of Agriculture. 1(2): 200-209.
- Segura, S.F., Echeverri, F.R., Patiño, LL. A. C. y Mejía G. A. I. 2007. Descripción y discusión acerca de los métodos de análisis de fibra y del valor nutricional de forrajes y alimentos para animales. Revista de la facultad de química farmacéutica. Medellín, Colombia. (14): 72-81.
- Simada, A. M. 2003. Nutrición animal. 1ª ed. Ed. Trillas. México, D. F. p. 96-117.
- Sniffen C J, O'Connor J D, Van Soest P J, Fox D G and Russell J B 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. J. Anim. Sci. 70:3562.

- Theodorou, M. K.; Williamsa, A. B.; Dhanoaa, S. M.; McAllana, A. B. and France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 48: 185-197.
- Urzúa, S. F. 2008. Principio del manejo integrado de malezas. Universidad Autónoma de Chapingo. 1:1-14.
- Villa, M. C. I., Tena, M. M. J., Tzintzun, R. R. y Val, A.D. 2007. Las arvenses naturales como recurso forrajero en comunidades de la región lechera de Morelia, Mich.
- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. Ed. Cornell University Press. Ithaka, New York. P 108-156.
- Van Soest, P. J. 1991. Evaluación de forrajes y calidad de los alimentos para rumiantes.
- Van, L. E. y Regueiro, M. 2008. Digestión en retículo-rumen. Departamento de producción animal y pasturas. Montevideo, Uruguay. (1):1-30.
- Williams, B. A. 2000. Cumulative gas-production techniques for forage evaluation. Forage evaluation in ruminant nutrition. Ed. CABI. New York. p. 189-213.

13 ANEXOS.

13.1. Determinación de análisis proximal.

Material:

- Capsula de aluminio.
- Balanza analítica.
- Estufa de desecación.
- Campana de desecación.

Procedimiento:

1. Se pesaron las capsulas de aluminio en la balanza analítica, se anota el peso de la capsula; a este peso se le aumento 10 g o mas según la cantidad requerida, esto es el peso de la muestra.
2. Se distribuyó uniformemente la muestra en toda la capsula, y se llevó al horno de secado el cual debe estar a una temperatura de 100 a 110°C, donde se dejó de 3 a 4 horas.
3. Al terminar el periodo de 3 horas se sacaron las capsulas y se llevaron a la campana de desecación, se dejaron enfriar y después se pesaron.

Cálculos:

$$(\text{Peso total de la capsula} - \text{peso de la capsula seca}) \times 100$$

$$\% H = \frac{\quad}{\quad}$$

Peso de la muestra (10 g)

% H = porcentaje de humedad.

% **MATERIA SECA** = 100 - porcentaje de humedad.

13.2. Determinación de extracto etéreo.

Material:

- Aparato de extracción de grasa Labconco.
- Vasos especiales con bordes esmerilados.
- Dedales de papel o asbesto.
- Campana de desecado.
- Tubos contenedores de muestra.
- Anillos metálicos.
- Balanza analítica.
- Papel filtro de 11 cm.

Reactivo:

- Éter de petróleo anhidro.

Procedimiento:

1. Se pesaron 2 g de muestra seca y se colocaron en un dedal de asbesto.
2. Se cubrió la muestra con un papel filtro, cuyo diámetro debe ser igual al diámetro del dedal. Este papel ayuda a la distribución del éter.
3. Se colocaron los dedales dentro de los anillos metálicos del aparato.
4. Se pesó el vaso de la grasa en la balanza analítica, se anotó el peso del vaso, después se añadió 25 ml de éter de petróleo.
5. Se coloca el vaso en el aparato, con el anillo metálico.
6. Se abre la llave del agua para enfriar.
7. La parrilla se levanta hasta tocar el vaso, girando el control de temperatura de «LO» abrir el switch y extraer por un periodo de 3 a 4 horas.

8. Se apagó la parrilla, se bajó y esperamos a que el éter deje de gotear.
9. Se Zafo el anillo de la rosca y saco el vaso.
10. Se quitó el tubo contenedor de la muestra y guardo para la determinación de fibra cruda.
11. Se colocó el vaso sobre la parrilla, con el control de temperatura en " LO " volatilizar el éter, y se dejaron enfriar los vasos en la campana de desecación posteriormente pesaron nuevamente.

Cálculos:

$$\% EE = \frac{(\text{Peso vaso con E.E} - \text{peso vaso solo}) * 100}{\text{Peso de la muestra.}}$$

13.3. Determinación de proteína cruda.

Material:

- Aparato de destilación Kjeldahl.
- Balanza analítica Boch.
- Matraz de Kjeldahl de 800 ml.
- Papel filtro.
- Matraz Erlenmeyer de 500 ml.
- Probetas de 100 y 200 ml.
- Buretas automáticas de 50 ml.

Reactivos:

- Ácido sulfúrico al 95%.

- Solución de NaOH al 45%.
- Solución de NaOH 0.1 N.
- Mezcla catalítica: Sulfato de sodio (10 g) Oxido de mercurio (0.7g).
- Indicador rojo de metilo.
- Tiosulfato de sodio al 8%.
- Gránulos de zinc.

Procedimiento:

1. Se pesaron 2 g de muestra en un papel filtro, se colocó el papel filtro con la muestra dentro del matraz de Kjeldahl de 800 ml.
2. Se añadió 10.7 g de mezcla catalítica que está formada por 10 g de sulfato de sodio anhidro y 0.7 g de Oxido de mercurio, junto con 25 ml de ácido sulfúrico concentrado.
3. Se colocaron los matraces en el aparato de Kjeldahl (digestor), hasta que la muestra tubo un color verde claro (aproximadamente de 45 minutos a 1 hora). Consecutivamente la muestra se va ennegreciendo y ocasionalmente se hizo girar el matraz.
4. Cuando la muestra se puso clara se dejó hervir 30 minutos más, después se apagó y se dejó enfriar los matraces un mínimo de 30 minutos, se agregaron 200 ml de agua destilada.
5. En matraces Erlenmeyer de 500 ml se pusieron 50 ml de ácido sulfúrico al 0.1N, este se colocó debajo del tubo del condensador teniendo cuidado de que la punta de este penetre dentro de la solución de ácido.

6. En el matraz de Kjeldahl se agregaron gránulos de zinc, 25 ml de tiosulfato de sodio al 8% y 75 ml de NaOH al 45%.
7. Se colocaron los matraces en el destilador y se agitaron. Se inició el proceso de destilación, recibiendo en el matraz de 150 a 200 ml de destilado.
8. Al contenido del matraz Erlenmeyer se le puso una gota de indicador rojo de metilo, el cual cambiara de fucsia a amarillo.
9. Se tituló y se anotó los ml de NaOH 0.1N, gastados en su titulación.

Cálculos:

$$\%N = \frac{((N^{\circ}V^{\circ} - N'V') - (N''V'' - NV)) \cdot 0.014 \cdot 100}{W}$$

En dónde:

N° = Normalidad del ácido sulfúrico en la muestra (0.1).

V° = Volumen del ácido sulfúrico usado en la muestra (50).

V' = Volumen del NaOH gastado en la muestra (X).

N' = Normalidad del NaOH gastado en la muestra (0.1).

N'' = Normalidad del ácido sulfúrico en el blanco (0.1).

V'' = Volumen del ácido sulfúrico usado en el blanco (50).

N = Normalidad del NaOH usado en el blanco (0.1).

V = Volumen del NaOH gastado en el blanco (Y).

W = Peso de la muestra.

$$\% \text{ PROTEINA} = \% \text{ F}$$

En donde:

% N = Porcentaje de nitrógeno.

F = Factor de conversión 6.25.

13.4. Determinación de cenizas.

Material:

- Crisol de porcelana
- Balanza analítica
- Mufla
- Campana de desecación

Procedimiento:

1. Se pesaron los crisoles en la balanza analítica.
2. Aparte se pesaron 2 g de muestra.
3. Se pusieron los crisoles en la mufla a una temperatura de 550 a 600 °C, la cual se mantuvo a esta temperatura por 2 horas o un poco más hasta que la muestra este completamente blanca.
4. Se esperaron a que se enfríen los crisoles en la campana de desecación y a continuación se pesaron.

Cálculos:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(\text{Peso crisol calcinado} - \text{peso crisol solo}) \times 100}{\text{Peso de la muestra (2 g).}}$$

13.5. Carbohidratos no Estructurales Totales.

La determinación de Carbohidratos no Estructurales Totales (%CNT) se calculó como se muestra en la siguiente ecuación:

Cálculos:

$$\%CNET = 100 - (\%PC + \%EE + \%Cen + \%FDN).$$

13.6. Determinación de Fibra Detergente Neutra (FDN) y Fibra Detergente Acida (FDA) por el método de Van Soest.

13.6.1. Determinación de FDN.

Material:

- Balanza Analítica.
- Estufa de desecación a una temperatura de 102 ± 2 ° C.
- Instrumento capaz de realizar la digestión a $100 \pm 0,5$ °C a una presión de 10-25 psi. El instrumento también debe ser capaz de crear un flujo similar alrededor de cada muestra para asegurar la uniformidad de extracción ANKOM²⁰⁰ (ANKOM Technology) Figura 6a.
- Bolsas filtro capaz de ser selladas con calor y retener partículas de 25 micras permitiendo al mismo tiempo la penetración de solución rápida ANKOM^{F57} (ANKOM Technology).

- Para el sellado de las bolsas filtro se necesita una operculadora para asegurar el cierre completo ANKOM¹⁹¹⁵ (ANKOM Technology).
- El Desecador, bolsa plegable, sellable con desecante en el interior y que permita la eliminación de aire de alrededor de las bolsas filtro (ANKOM Technology).
- Rotulador resistente a los solventes y ácidos.

Reactivos:

- Solución Detergente Neutro: Añadir 30,0 g de lauril sulfato de sodio, USP; 18.61g etilendiamino tetra acético, sal disódica dihidrato; 6,81 g de sodio decahidrato tetraborato; 4,56 g de fosfato de sodio dibásico anhidro y 10,0 ml de glicol de trietilenglicol, en 1 L de H₂O destilada (solución química premezclada ANKOM Technology). Verificar el pH a 6,9 a 7,1. Agitar y calentar para ayudar solución.

Preparación de la muestra:

- Las muestras se procesaron en un molino centrífugo con un tamiz de 1 mm. Las muestras más finas de tierra pueden tener la pérdida de partículas de las bolsas de filtro y dar lugar a valores bajos.

Procedimiento:

1. Con un marcador resistente a los solventes se etiqueto las bolsas filtro y después se pesaron de manera individual (W1).
2. Una vez obtenido el peso individual por bolsa, se pesaron entre 0.45-0.55 g de la muestra (arvenses y alfalfa) (W2) directamente en la bolsa filtro. Evitando colocar la muestra en la parte superior 4 mm de la bolsa.

3. Se sellaron completamente las bolsas sobre el borde superior abierto de estas a una distancia de 4 mm de la parte superior (bolsa muestra).

Nota: utilice el calor suficiente para sellar completamente (2 segundos) antes de retirar la bolsa del cierre por calor.
4. Se pesaron y etiquetaron 2 las bolsas sin muestra que fueron los blancos, para determinar la corrección de la bolsa en blanco (C1).
5. Se colocaron las bolsas en el suspendedor del aparato ANKOM²⁰⁰, posteriormente se insertó el suspendedor y se colocó el peso encima para mantenerla sumergida. Figura 6b.
6. Se añadió 1 900-2 000mL de solución FDN al compartimento del aparato donde se introdujo el suspendedor con las bolsas muestra.
7. Se programó las funciones agitar y calentar durante un periodo de 75 min.
8. Transcurrido el tiempo se apagaron las funciones agitar y calentar, se abrió la válvula de drenaje (lentamente) hasta vaciar por completo la solución caliente antes de abrir la tapa.
9. Después de que la solución se agotó se cerró la válvula de drenaje y abrió la tapa. Se añadió 1900mL de 70-90 °C) de agua destilada para el primero, segundo y tercer enjuague, cada enjuague duro 5 minutos en la función de agitar y calentar.
10. Cuando el proceso de enjuague termino se sacaron las bolsas muestras y presionaron suavemente para eliminar el exceso de agua de las bolsas. Posteriormente se colocaron las bolsas en un vaso de precipitados de 250

ml y se añadió acetona suficiente para cubrir las bolsas y remojar durante 5 min.

11. Se retiraron las bolsas de la acetona y se colocaron sobre una rejilla para dejarlas secar por el aire. Subsiguientemente las bolsas muestra se colocaron en la estufa de desecación a $102 \pm 2^{\circ} \text{C}$ durante 3 horas.

Nota: no coloque las bolsas en el horno hasta que la acetona se ha evaporado por completo. Figura 6c.

12. Se retiraron las bolsas de la estufa para colocarlas directamente en una bolsa desecante plegable, se debe aplanar para eliminar el aire. Las bolsas se dejaron enfriar a temperatura ambiente y después se pesaron (W3).

Cálculos:

$$\% \text{FDN} = \frac{(W3 - (W1 \times C1))}{W2} \times 100$$

En dónde:

W1 = peso tara Bolsa

W2 = Peso de la muestra

W3 = peso seco de la bolsa, con la fibra después del proceso de extracción

C1 = corrección bolso en blanco (que se ejecuta promedio de secado en estufa último peso dividido por el peso de la bolsa blanco original).

13.6.2. Determinación de FDA.

Una vez finalizado el proceso para la obtención de la FDN, las mismas bolsas muestras fueron sometidas a hora al proceso de FDA como a continuación se explica:

Material:

- Balanza Analítica.
- Estufa de desecación a una temperatura de 102 ± 2 ° C.
- Instrumento capaz de realizar la digestión a $100 \pm 0,5$ °C a una presión de 10-25 psi. El instrumento también debe ser capaz de crear un flujo similar alrededor de cada muestra para asegurar la uniformidad de extracción ANKOM²⁰⁰ (ANKOM Technology). Figura 6a.
- Bolsas filtro capaz de ser selladas con calor y retener partículas de 25 micras permitiendo al mismo tiempo la penetración de solución rápida ANKOM^{F57} (ANKOM Technology).
- Para el sellado de las bolsas filtro se necesita una operculadora para asegurar el cierre completo ANKOM¹⁹¹⁵ (ANKOM Technology).
- El Desecador, bolsa plegable, sellable con desecante en el interior y que permita la eliminación de aire de alrededor de las bolsas filtro (ANKOM Technology).
- Rotulador resistente a los solventes y ácidos.

Reactivos:

- Solución Detergente Acido: añada 20 g de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) a 1 L de H_2SO_4 1,00 N estandarizado previamente (solución químico premezclada ANKOM). Agitar y calentar para ayudar solución.

Procedimiento:

1. Con un marcador resistente a los solventes se etiqueto las bolsas filtro y después se pesaron de manera individual (W1).
2. Una vez obtenido el peso individual por bolsa, se pesaron entre 0.45-0.55 g de la muestra (arvenses y alfalfa) (W2) directamente en la bolsa filtro. Evitando colocar la muestra en la parte superior 4 mm de la bolsa.
3. Se sellaron completamente las bolsas sobre el borde superior abierto de estas a una distancia de 4 mm de la parte superior (bolsa muestra).

Nota: utilice el calor suficiente para sellar completamente (2 segundos) antes de retirar la bolsa del cierre por calor.
4. Se pesaron y etiquetaron 2 las bolsas sin muestra que fueron los blancos, para determinar la corrección de la bolsa en blanco (C1).
5. Se colocaron las bolsas en el suspendedor del aparato ANKOM²⁰⁰, posteriormente se insertó el suspendedor y se colocó el peso encima para mantenerla sumergida. Figura 6b.
6. Se añadió 1 900-2 000mL de solución FDN al compartimento del aparato donde se introdujo el suspendedor con las bolsas muestra.
7. Se programó las funciones agitar y calentar durante un periodo de 75 min.

8. Transcurrido el tiempo se apagaron las funciones agitar y calentar, se abrió la válvula de drenaje (lentamente) hasta vaciar por completo la solución caliente antes de abrir la tapa.
9. Después de que la solución se agotó se cerró la válvula de drenaje y abrió la tapa. Se añadió 1900mL de 70-90 °C) de agua destilada para el primero, segundo y tercer enjuague, cada enjuague duro 5 minutos en la función de agitar y calentar.
10. Cuando el proceso de enjuague termino se sacaron las bolsas muestras y presionaron suavemente para eliminar el exceso de agua de las bolsas. Posteriormente se colocaron las bolsas en un vaso de precipitados de 250 ml y se añadió acetona suficiente para cubrir las bolsas y remojar durante 5 min.
11. Se retiraron las bolsas de la acetona y se colocaron sobre una rejilla para dejarlas secar por el aire. Subsiguientemente las bolsas muestra se colocaron en la estufa de desecación a 102 ± 2 ° C durante 3 horas.

Nota: no coloque las bolsas en el horno hasta que la acetona se ha evaporado por completo. Figura 6c.
12. Se retiraron las bolsas de la estufa para colocarlas directamente en una bolsa desecante plegable, se debe aplanar para eliminar el aire. Las bolsas se dejaron enfriar a temperatura ambiente y después se pesaron (W3).

Cálculos:

$$\%FDN = \frac{(W3 - (W1 \times C1))}{W2} \times 100$$

W2

En dónde:

W1 = peso tara Bolsa.

W2 = Peso de la muestra.

W3 = peso seco de la bolsa, con la fibra después del proceso de extracción.

C1 = corrección bolso en blanco (que se ejecuta promedio de secado en estufa último peso dividido por el peso de la bolsa blanco original).

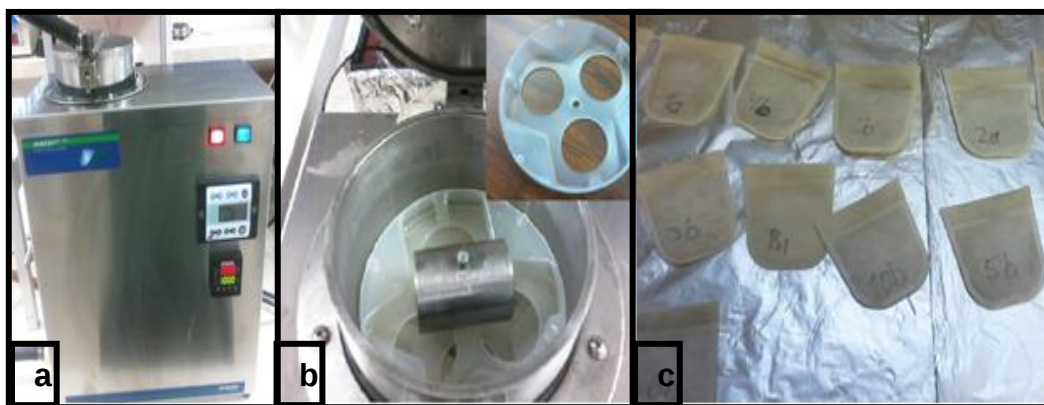


Figura 21. Determinación de Fibra Detergente Neutra y Ácida.