

DETERMINACIÓN DE LA EMISIÓN DE GASES EFECTO INVERNADERO EN DOS
SISTEMAS PRODUCTIVOS DE LA CUENCA LECHERA DEL DEPARTAMENTO DE
NARIÑO, MEDIANTE EL USO DE LA TÉCNICA *In vitro*.

FRANCISCO JAVIER ACHICANOY ANGANOY

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRARIAS
ÁREA DE ÉNFASIS – PRODUCCIÓN ANIMAL
SAN JUAN DE PASTO
2015

DETERMINACIÓN DE LA EMISIÓN DE GASES EFECTO INVERNADERO EN DOS
SISTEMAS PRODUCTIVOS DE LA CUENCA LECHERA DEL DEPARTAMENTO DE
NARIÑO, MEDIANTE EL USO DE LA TÉCNICA *In vitro*.

FRANCISCO JAVIER ACHICANOY ANGANOY

Trabajo de trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de: Magister en
Ciencias Agrarias con Énfasis en Producción Animal

DIRECTOR DEL TRABAJO:
JOSÉ EDMUNDO APRÁEZ GUERRERO. ZOOT, M.Sc, Ph.D.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRARIAS
ÁREA DE ÉNFASIS – PRODUCCIÓN ANIMAL
SAN JUAN DE PASTO
2015

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son responsabilidad exclusiva de los autores”

Artículo 1° el Acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1966 emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

NOTA DE ACEPTACIÓN

EFRÉN GUILLERMO INSUASTY. Zoot, M.Sc.
Jurado delegado

RICARDO ROSERO NOGUERA. Zoot, M.Sc, Ph.D.
Jurado

OLGA LUCIA ROSERO ALPALA. Zoot, M.Sc, Ph.D.
Jurado

JOSÉ EDMUNDO APRÁEZ GUERRERO. Zoot, M.Sc, Ph.D.
Presidente

San Juan de Pasto, Mayo de 2015

AGRADECIMIENTOS

Edmundo Apráez Guerrero. Zoot, M.Sc, Ph.D.

Olga Lucia Rosero Alpala. Zoot, M.Sc, Ph.D.

Ricardo Rosero Noguera. Zoot, M.Sc, Ph.D.

Efrén Insuasty. Zoot, M.Sc.

Margaret Pasquini. Ph.D – Directora Corpoica

Carlos Jojoa. Zoot, Esp.

Hernán Burbano Orjuela. I.A, MSc, PhD.

Bayardo Yepez. I.A, MSc.

Hernando Criollo. I.A, MSc. Ph.D

Julian Apráez Muñoz. I.A, MSc. (c)

Janeth Salas. Zoot.

Johana Salazar. Zoot.

Julie Marcela Delgado. Zoot. Esp.

Juan Pablo Narváez. Zoot.

Myriam Fajardo. Secretaria Maestría en Ciencias Agrárias.

Dedicado a:

Papito Dios, quien siempre ha estado a mi lado.
Mi mami Gladys y a mi hermanito Andrés David.
Doctor Edmundo Apráez, Maestro y amigo.

A la Universidad de Nariño, Vicerrectoría de Investigaciones, Postgrados y Relaciones Internacionales VIPRI y a todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a la culminación de este trabajo.

DETERMINACIÓN DE LA EMISIÓN DE GASES EFECTO INVERNADERO EN DOS SISTEMAS PRODUCTIVOS DE LA CUENCA LECHERA DEL DEPARTAMENTO DE NARIÑO, MEDIANTE EL USO DE LA TÉCNICA *In vitro*.

RESUMEN

Antecedente: En los últimos años se han realizado diferentes estudios *In vitro* sobre emisiones de gases efecto invernadero (GEI), sin embargo, a nivel local no se dispone de información suficiente sobre el tipo y cantidad de GEI producidos por las pasturas tradicionalmente usadas como alimento del ganado lechero. Objetivo: Determinar emisiones de GEI en dos sistemas lecheros del municipio de Pasto - Nariño, mediante la técnica *In vitro*. Materiales y métodos: En dos sistemas lecheros, el primero no tecnificado (SNT) con alimentación a base de pasturas naturalizadas de *Pennisetum clandestinum*, *Holcus lanatus* en asocio con arvenses y el segundo un sistema tecnificado (ST) por variedades de *Lolium* sp asociadas a tréboles. Se muestrearon ocho fincas, cuatro en cada sistema, en las que se caracterizó su producción de biomasa, la composición botánica, nutricional y GEI. La producción de gases se determinó en las horas 0, 3, 6, 12, 24, 48 y 72 del proceso. La validación estadística utilizó un modelo de medidas repetidas en el tiempo PROC MIXED de SAS 9.1. Las medias fueron ajustadas y comparadas por Tukey – Kramer. Los sistemas lecheros se compararon mediante un diseño de Bloques Completos al Azar y se correlacionaron entre sí las variables productivas, bromatológicas, producción de metano y ácidos grasos volátiles mediante Statgraphics Centurion XV.II. Resultados: En las praderas del ST se presentaron mayores contenidos de carbohidratos estructurales y emisiones de metano que el SNT. En ambos sistemas, las asociaciones gramínea/leguminosa y gramínea/arvense reportaron valores superiores en Degradabilidad de la Materia Seca y Degradabilidad de la Materia Orgánica. Conclusiones: Se confirmó que la variedad florística en las praderas propicia mejores índices de degradabilidad y menores emisiones de metano.

Palabras clave: Metano, Producción de gas, Rumiantes, Técnica *In Vitro*

DETERMINATION OF GREENHOUSE GAS EMISSIONS OF DAIRY PRODUCTION SYSTEMS IN NARIÑO (COLOMBIA) USING THE *In vitro* TECHNIQUE

ABSTRACT

Background: In recent years several *in vitro* studies have been carried out to determine greenhouse gas emissions (GEG), however, at local level there is insufficient information on the type and quantities of GEG produced by pastures traditionally used in dairy production. Objective: To determine GEG in two dairy production systems in the municipality of Pasto - Nariño, using the *in vitro* technique. Materials and methods: The study was carried out in two dairy systems, the first one was a non-technified system (NTS) composed of naturalized pastures of *Pennisetum clandestinum* and *Holcus lanatus* in association with weeds, and the second technified system (TS) was composed of varieties of *Lolium* sp., associated with clover. Eight farms were sampled, four in each system, in which characterization of biomass production, botanical and nutritional composition and GEG was undertaken. GEG were determined at 0, 3, 6, 12, 24, 48 and 72 hours of the process. The statistical validation used a repeated measures in time model, PROC MIXED of the SAS 9.1 program. Means were adjusted and compared according to the Tukey – Kramer test. The comparison between dairy systems was carried out with a randomized complete block design and productive, bromatological, total methane production and volatile fatty acid variables were correlated using the statistical package Statgraphics Centurion XV.II. Results: TS grasslands presented higher levels of structural carbohydrates and methane emissions than the NTS grasslands. In both systems the associations graminaceous plants/legumes and graminaceous plants/weeds reported values that were higher in degradability of dry matter and degradability of organic matter. Conclusions: It was confirmed that floristic variability in grasslands promotes better levels of degradability and lower methane emissions.

Key words: Methane, gas production, Ruminant, *In Vitro* technique

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	17
2. OBJETIVOS.....	18
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	18
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	18
3. MARCO TEORICO	19
3.1. LA GANADERÍA EN EL CONTEXTO COLOMBIANO Y NARIÑENSE.....	19
3.1.1. Ganadería tradicional y tecnificada en Nariño. 20	
3.2. GASES CON EFECTO INVERNADERO.....	21
3.2.1. Emisiones de gas metano en rumiantes y su impacto ambiental.	21
3.2.2. Características metabólicas y microorganismos del sistema digestivo en rumiantes.	22
3.2.3. Emisiones Dióxido de carbono al medio ambiente.	24
3.2.4. Emisiones de gases desde el suelo – Óxido Di nitroso (N ₂ O).	25
3.3. LA TÉCNICA <i>In vitro</i> DE PRODUCCIÓN DE GASES	25
3.3.1. Medición de presión del gas.	26
3.3.2. Medición del volumen del gas.....	26
3.4 ALTERNATIVAS PARA REDUCIR LAS EMISIONES DE METANO	26
3.4.1. Asocio de praderas con sistemas silvopastoriles.	26
3.4.2. Adición de grasas y aceites a la dieta.	27
3.4.3. Adición de ionóforos.....	27
3.4.4. Procesamiento de fuentes forrajeras.....	27
3.4.5. Tipo de carbohidrato.	27
3.5. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LAS PASTURAS.....	28
3.5.1 Componentes del valor nutritivo de los pastos	29
3.5.2 Proteína cruda. Un.....	29
3.5.3 Extracto etéreo.	29
3.5.4 Carbohidratos.	29
3.5.5. Minerales.	29

4.	DISEÑO METODOLÓGICO	30
4.1	LOCALIZACIÓN.	30
4.2.	METODOLOGÍA.....	30
4.3.	VARIABLES AGRONÓMICAS.....	30
4.4.	VARIABLES BROMATOLÓGICAS.....	31
4.5.	MONTAJE Y ADECUACIÓN DE LA TÉCNICA <i>In vitro</i> DE PRODUCCIÓN DE GASES.	32
4.6.	CARACTERÍSTICAS DE LOS ANIMALES DONANTES DEL INÓCULO.....	34
5.	DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	38
6.	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	40
6.1.	VARIABLES PRODUCTIVAS DE LAS PRADERAS.....	40
6.2.	PERIODO DE RECUPERACIÓN (PR).	40
6.3.	PRODUCCIÓN DE BIOMASA (PB).....	41
6.4.	COMPOSICIÓN BOTÁNICA.....	42
6.5.	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	43
6.6.	CONTENIDO NUTRICIONAL.....	44
6.7.1.	Materia seca (MS). E.....	44
6.7.2.	Proteína cruda (PC) y Proteína verdadera (PV).	45
6.7.3.	Carbohidratos estructurales. Al remitirnos a las tablas 6 y 7, observamos que.	48
6.7.4.	Minerales.	49
6.8.	EMISIONES DE GEI.....	52
6.8.1	Emisión total del gas.....	52
6.8.2	Emisiones de metano (CH ₄).	55
6.8.3.	Presión y volumen	59
6.8.4.	Producción de Ácidos Grasos Volátiles (AGV'S).....	60
6.9.	Degradación <i>In vitro</i> de la materia seca (DMS) y la materia orgánica (DMO)	62
7	PLAN ALIMENTICIO DE VACAS EN PRODUCCIÓN PARA REDUCIR EMISIONES DE METANO.....	65
	CONCLUSIONES.....	66
	BIBLIOGRAFÍA.....	67
	ANEXOS.....	86

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Características generales de los animales donantes del Inóculo fecal.	34
Tabla 2. Productividad de las praderas del sistemas no tecnificados en una cuenca lechera del departamento de Nariño.	41
Tabla 3. Productividad de las praderas del sistema tecnificado en una cuenca lechera del departamento de Nariño.	41
Tabla 4. Composición botánica de dos sistemas productivos en una cuenca lechera del departamento de Nariño.	42
Tabla 5. Clasificación taxonómica de dos sistemas productivos en una cuenca lechera del departamento de Nariño.	43
Tabla 6. Composición nutricional de las praderas del sistema no tecnificados en una cuenca lechera del departamento de Nariño.	44
Tabla 7. Composición nutricional de las praderas del sistema tecnificado en una cuenca lechera del departamento de Nariño.	45
Tabla 8. Diferencia porcentual entre Proteína Cruda (PC) y Proteína Verdadera (PV) de las praderas del sistema no tecnificado.	47
Tabla 9. Diferencia porcentual entre Proteína Cruda (PC) y Proteína Verdadera (PV) de las praderas del sistema tecnificado.	47
Tabla 10. Producción de gas acumulada (ml/g) de las praderas del sistema no tecnificado tras 72 horas de degradación.	52
Tabla 11. Producción de gas acumulada (ml/g) de las praderas del sistema tecnificado tras 72 horas de degradación.	54
Tabla 12. Producción total de CH ₄ (ml/kg de MS) de las praderas del sistema no tecnificado en una cuenca lechera del departamento de Nariño.	56
Tabla 13. Producción total de CH ₄ (ml/kg de MS) de las praderas del sistema tecnificado en una cuenca lechera del departamento de Nariño.	57
Tabla 14. Ecuaciones de regresión entre presión (psi) (X) y volumen de gas (ml) (Y) en diferentes laboratorios.	59

Tabla 15. Ecuaciones de regresión entre presión (psi) (X) y volumen de gas (ml) (Y) obtenidas para el laboratorio de Bromatología de la Universidad de Nariño.....	59
Tabla 16. Producción de AGV's de las praderas del sistema no tecnificado de una cuenca lechera del departamento de Nariño.....	61
Tabla 17. Producción de AGV's de las praderas del sistema tecnificado de la cuenca lechera del departamento de Nariño.	62
Tabla 18. Degradación In vitro de la MS y MO de las praderas del sistema no tecnificado de una cuenca lechera del departamento de Nariño.....	63
Tabla 19. Degradación In vitro de la MS y MO de las praderas del sistema tecnificado de la cuenca lechera del departamento de Nariño.....	64

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Correlaciones entre variables bromatológicas, productivas y de emisión de GEI de las praderas del sistema no tecnificado.	50
Figura 2. Correlaciones entre variables bromatológicas, productivas y de emisión de GEI de las praderas del sistema tecnificado.	51
Figura 3. Relación entre presión y volumen	60

LISTA DE ANEXOS

Pág.

Anexo A. Protocolo Técnica In vitro de producción de gases. 89

GLOSARIO

Ácido Graso Volátil (AGV): Es el producto de la fermentación microbial de carbohidratos y algunos aminoácidos en el rumen. Se tiene el Ácido Acético, Acido Butírico y Ácido Propiónico son los principales ácidos volátiles que se absorben a través del rumen y se utilizan como fuentes de energía para la vaca.

Amoniaco: Es un producto final de la degradación de proteína por las bacterias del rumen.

Análisis proximal: Combinación de procedimientos analíticos que se utilizan para cuantificar el contenido de proteínas, materia seca, cenizas y glucósidos de los alimentos, tejidos animales o excretas.

Bromatología: Corresponde al análisis de las propiedades químicas de un alimento llevadas a cabo en un laboratorio.

Celulosa: Polímero de glucosa que se encuentra en un enlace resistente a la hidrólisis producida por las enzimas digestivas.

Degradabilidad: Es la descomposición de una sustancia por rotura de los enlaces que unen los elementos químicos que la forman. Puede producirse por la acción de oxígeno, la luz, el calor y ciertos microorganismos.

Fermentación anaeróbica: Proceso catabólico de descomposición de materiales orgánicos con ausencia de oxígeno donde intervienen microorganismos descomponedores adaptados a condiciones de anaerobiosis.

Fibra Detergente Neutro: Es la medida de la cantidad de pared celular en un alimento, incluye a la celulosa, hemicelulosa y lignina.

Inoculación: Es la introducción de microorganismos en un medio de cultivo o en un organismo vivo.

Materia seca: Resultado de restar la humedad del material analizado (Alimento), el cual es expresado generalmente en términos de porcentaje.

Metano: Es uno de los gases con mayor aporte al calentamiento global.

Sustrato: Un sustrato es una molécula sobre la que actúa una enzima o también se considera como la superficie en la que un organismo animal vive, crece y se reproduce.

INTRODUCCIÓN

La ganadería en Colombia es un renglón cultural y socioeconómico relevante para el desarrollo del agro, especialmente para el departamento de Nariño, que se ha caracterizado por su vocación agraria, donde la producción de leche se lleva a cabo en gran parte del territorio, incrementándose notablemente en los últimos años; sin embargo es fuertemente cuestionada debido al uso irracional del recurso edáfico, hídrico y ambiental de la región, especialmente por tratarse de suelos frágiles de ladera en trópico alto, donde es más notable el impacto causado. La problemática enunciada podría considerar a futuro la promulga de políticas que conduzcan a regular la producción bovina en cada región o buscar la manera de hacerlos más eficientes con base en los recursos forrajeros naturales o naturalizados de cada zona, para aminorar el impacto ambiental y económico de los sistemas adoptados por intereses diferentes al bienestar del pequeño campesino. Por ende la necesidad de buscar alternativas que permitan potencializar los sistemas productivos haciendo uso de recursos de la región de una manera viable, amigable y sostenible con el medioambiente.

Por otra parte, el crecimiento incontrolado de la población humana no es proporcional con la oferta de alimentos, especialmente con los de origen animal, y por ende, es un compromiso para los profesionales del sector agropecuario maximizar la eficiencia y sostenibilidad de los sistemas productivos; reducir los costos de producción y manejar en forma holística los conceptos de integralidad entre la agricultura, la ganadería y la silvicultura para evitar el colapso medioambiental que se avecina.

Puesto que es conocido que un alto porcentaje de la energía contenida en los forrajes no es provechada en su totalidad por el animal, ésta se desperdicia al transformarse por diferentes procesos bioquímicos o fermentativos en gas metano, energía que podría ser utilizada eficientemente para mejorar los procesos de mantenimiento, producción y reproducción del hato lechero y consigo la rentabilidad y sostenibilidad de la empresa agropecuaria.

La presente investigación permitió identificar qué tipo y cantidad de gases efecto invernadero emiten las praderas comúnmente usadas en los sistemas de producción lechera del municipio de Pasto y que especies forrajeras permiten obtener menores emisiones de gases efecto invernadero.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la emisión de gases efecto invernadero en dos sistemas de producción lechera del municipio de Pasto - Nariño, mediante el uso de la técnica *In vitro*.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Caracterizar botánica y taxonómica de las bases forrajeras de los hatos.

Valorar nutricionalmente las dietas forrajeras empleadas en cada localidad.

Identificar las dietas alimenticias tradicionales más eficientes para la producción de leche y con menor emisión de gases.

Proponer un plan alimenticio estratégico para la región que permita reducir el impacto ambiental de la ganadería lechera.

3. MARCO TEORICO

3.1. LA GANADERÍA EN EL CONTEXTO COLOMBIANO Y NARIÑENSE

De acuerdo a estadísticas realizadas por (FEDEGAN 2015), la producción de leche en Colombia desde el año 2010 presentó un incremento del 5,56% hasta finales del año 2014, pasando de 6.363 millones de litros de leche cruda a 6.717 millones de litros. De acuerdo a este mismo ente, los efectos del fenómeno de la Niña se sintieron a lo largo del año, impidiendo que la producción de leche se recuperara de las sequías e inundaciones que impactaron negativamente en el 2010.

La principal actividad pecuaria en las zonas de clima frío de Colombia es la producción de leche con razas especializadas (Holstein). El pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y raygrass (*Lolium multiflorum*) hacen parte fundamental de la dieta suministrada. Los sistemas productivos surgen a partir de la tala y quema de bosques altoandinos y de niebla, caracterizados por una escasa cobertura arbórea y suelos desprotegidos, susceptibles a la erosión (FEDEGAN 2006)

De acuerdo al Consolidado Agropecuario del departamento de Nariño para el año 2012, el inventario bovino se calcula en 301.903 cabezas de ganado, de las cuales 100.548 corresponden a vacas en ordeño, con una producción total de lechera con una producción total de 777.428 litros/día aproximadamente.

El Plan de Desarrollo Departamental “Nariño Mejor” 2012 – 2015 afirma que en el contexto Colombiano, el departamento de Nariño se encuentra entre los 10 departamentos más productores de leche, en el 2011 se produjeron 782.694 litros diarios procedentes de 117.701 vacas en ordeño, representando una producción media de 6.6 litros vaca/día. El 8% de producción se destina para autoconsumo y 92% restante se comercializa en la industria formal e intermediarios con el 71 y 29%, respectivamente.

La utilización de praderas de gramíneas asociadas con leguminosas es una alternativa práctica para disminuir los costos por fertilizantes aplicados, e incrementar la calidad de la dieta. Las mezclas de gramíneas y leguminosas son muy importantes por las ventajas que se obtienen en su uso, se obtienen mayores rendimientos de forraje de mayor calidad que en la pradera pura, se puede rebajar o aun suprimir la fertilización nitrogenada, aprovechando el nitrógeno (N) atmosférico fijado por la leguminosa, que mejora la fertilidad del suelo, también importante porque presentan mayor resistencia a la sequía, a la incidencia de plagas y enfermedades y a heladas en el caso del kikuyo (Cárdenas, 2002).

3.1.1. Ganadería tradicional y tecnificada en Nariño. En la cuenca lechera del altiplano Nariñense predomina la producción intensiva con ganaderías especializadas de raza holstein y la alimentación forrajera, existen tres tipos de productores: pequeños productores o el minifundio (indígenas y campesinos), que representa más del 80% del total, y con un tamaño de finca promedio de 5 hectáreas; los medianos, con producciones por finca entre 300 y 500 litros diarios; y un reducido número de grandes productores, con producciones de más de 1000 litros por día. La productividad media por animal en la zona es de 16,26 litros/día. (Espinal et al., 2005)

En el sistema tradicional en trópico alto se tiene animales obtenidos de los cruces entre holstein y criollos de tamaño medio, donde la base de la alimentación en mayor porcentaje está compuesta por pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hoechst) Falsa poa (*Holcus lanatus*), brasilero (*Phalaris* sp), trébol rojo (*Trifolium pratense* L) trébol blanco (*Trifolium repens*) Lengua de vaca (*Rumex crispus*), azul orchoro (*Dactylis glomerata*, L.) Oloroso (*Anthoxanthum odoratum*), Sin embargo, en años recientes se ha dado como alternativa la introducción de ryegrass (*Lolium* spp), como reemplazo del pasto kikuyo (Cárdenas 2000).

En este sistema el consumo de arvenses rastreras y arbustivas por parte de los animales es más frecuente, quizás se deba a la presencia de praderas en asocio con diferentes especies nativas o naturalizadas.

(Castro y Amador, 2006) definen a la agricultura tradicional como la forma de manejar el medio natural circundante con técnicas artesanales transmitidas de generación en generación y adaptadas a las condiciones particulares de cada región. Parte de la maximización de los recursos locales, la mano de obra familiar en función de la satisfacción de las necesidades familiares. Posee una mínima dependencia de elementos externos como insumos agrícolas y transferencia tecnológica aunque incorpora algunos elementos técnicos básicos de la producción.

El portal SIEMBRA (2013) describe al sistema tecnificado de leche como aquel donde la vaca es ordeñada sin apoyo del ternero y el ternero macho es descartado normalmente a los pocos días de nacido; las vacas son generalmente puras o de alto porcentaje de genes provenientes de razas Europeas *Bostaurus* (ie., Holstein, Ayrshire, Jersey, Pardo Suizo, Overo Colorado, Guernesey entre otras) y son suplementadas con alimentos concentrados, por lo tanto su producción es alta. La mayoría de los sistemas especializados en leche se encuentran localizados en el trópico alto colombiano en regiones con climas frescos a fríos y cerca de los centros urbanos.

En el sistema tecnificado ganadero de trópico alto se tiene un mayor porcentaje de animales de raza holstein y normando, donde la base de alimentación forrajera se compone primordialmente de raygrases (*Lolium* spp), trébol rojo y blanco, alfalfa (*Medicago sativa*), donde el suministro de concentrados, sales mineralizadas y demás suplementos es más significativo. Los mismos autores consideran que la agricultura moderna parte principalmente de la investigación llevada a

cabo por centros de investigación y académicos internacionales. Propone el uso de variedades de cultivo mejoradas en sustitución de las variedades criollas y en subsidio de condiciones idóneas para su desarrollo a partir de insumos agrícolas sintéticos industriales. El fin perseguido es la maximización productiva de la tierra y del capital invertido.

En este sentido, Cuesta *et al.*, (2003) afirman que en áreas de medianos y grandes productores, además del pasto kikuyo se usan especies introducidas de raigrás (*Lolium perenne* y *Lolium multiflorum*), tanto materiales diploides como tetraploides, que usualmente presentan baja persistencia y producción por las altas demandas de nutrientes y humedad, que no son atendidas convenientemente por los productores. Así mismo, las cargas animales utilizadas en estas praderas están por encima de su potencial, lo que reduce la vida útil de estas praderas, incrementando también los costos de establecimiento y mantenimiento de estas praderas.

3.2. GASES CON EFECTO INVERNADERO

3.2.1. Emisiones de gas metano en rumiantes y su impacto ambiental. De acuerdo con Eguren 2004, el cambio climático representa una de las amenazas más preocupantes para el medio ambiente global, debido al impacto negativo que está causando en la salud humana, seguridad alimentaria, economía mundial, recursos naturales y la infraestructura física.

Kurihara *et al.*, (1999) señalan que el metano es producido por microorganismos del rumen durante la fermentación anaeróbica de carbohidratos solubles y estructurales principalmente, siendo estos últimos preponderantes en dietas basadas en forrajes.

Carmona *et al.*, (2005), señalan que el gas metano (CH₄), es considerado un signo de ineficiencia en la utilización de la energía en rumiantes; y se determina como la relación acético:propiónico; Por su parte Van Soest (1994); Johnson & Johnson (1995) señalan que los alimentos ricos en fibra (CE) fermentados en rumen, muestran aumentos tanto en la producción de ácido acético, como en las pérdidas de energía en forma de CH₄. La pérdida energética representada en producción de CH₄ puede estudiarse mediante el conocimiento de la energía metabolizable, es decir, la energía del alimento menos la energía perdida por emisión de estos gases en donde mayoritariamente se encuentra el CH₄ Mendoza *et al.*, (2008).

La producción de carne y leche en rumiantes está asociada con una producción relativamente alta de gases efecto invernadero (GEI) en comparación con otros productos alimenticios (Williams *et al.*, 2008). En un estudio reciente (FAO, 2010) estimó que la contribución del sector lechero a la producción mundial de gases efecto invernadero es del 2,7%.

El metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂) y óxido nitroso (N₂O) son denominados gases de efecto invernadero (GEI). A nivel mundial, la agricultura representa el 52% emisiones de CH₄ (Smith *et al.*, 2008). Se estima que la agricultura mundial produce desde 205 hasta 245 millones

toneladas de CH₄ por año y que 80 millones de toneladas de éstas son el producto de la fermentación entérica de los rumiantes (Moss *et al.*, 2000).

Corpoica 2009, afirma que la ganadería contribuye el 18% al cambio climático, el 9% a las emisiones de dióxido de carbono, el 37% de las emisiones de gas metano y el 65% óxido nitroso, gases que ya estas siendo en términos de incrementos graduales de la temperatura, creciente variabilidad en los regímenes de lluvias y mayor severidad y frecuencia de eventos extremos como inundaciones y sequias

El CO₂ es el gas con efecto invernadero más abundante en la atmosfera, y en la actualidad se lo cataloga como el principal causante del calentamiento global. El gas metano se ha incrementado notablemente en los últimos años y el problema radica en que contamina 20 a 30 veces más que el CO₂, llegando a ocupar con el tiempo el primer lugar (McCaughey *et al.*, 1997; McCaughey *et al.*, 1999). El mismo autor reporta que los animales domésticos, entre ellos el ganado pueden ser responsables del 15% de la producción de metano global.

3.2.2. Características metabólicas y microorganismos del sistema digestivo en rumiantes.

Los rumiantes presentan particularidades que los diferencian con el resto de los mamíferos, porque el rumen y el retículo, dos de los compartimientos pre-estomacales, se encuentran habitados por una de las más variadas, densas y activas poblaciones microbianas conocidas en la naturaleza (protozoos, bacterias y hongos), que desempeñan un papel significativo en la degradación del alimento que consumen los animales (Estrada *et al.*, 1993).

Montenegro y Abarca, (2002) consideran que los bovinos disponen de un sistema digestivo que tiene la capacidad de aprovechar y convertir material fibroso con altos contenidos de celulosa, en alimentos de alta calidad nutritiva: Carne y leche. Sin embargo, por sus características innatas, este mismo sistema también produce metano, un potente gas con efecto invernadero que contribuye con el 18% del calentamiento global antropogénico, superado solo por el CO₂.

Los mismos autores reportan que en bovinos, la degradación anaeróbica de celulosa a glucosa es realizada por bacterias de diferente tipo, en este proceso de fermentación se forma ácido acético, el cual se reduce a dióxido de carbono, que finalmente forma metano, una forma de energía digestible que puede llegar a representar del 15 al 18%, la cual no es aprovechada por el animal para la producción de carne o leche.

Otros autores enuncian que la conversión de la celulosa a glucosa requiere de la acción cooperativa secuencial llevada a cabo por una familia de enzimas celulolíticas constituida, al menos por tres complejos enzimáticos básicos: endoglucanasas (CMCasa:EC), exoglucanasas, nombradas celobiohidrolasas y glucosidasas (Leatherwood 1965, Li y Forsberg 1987, Xue *et al.*, 1992, Awafó *et al.*, 1996, Valiño 1999 y Galindo *et al.*, 2004).

Las bacterias responsables de la producción de metano son las *metanógenasarchaea* (Stewart, 1991, Van Soest, 1994, Weimer, 1998) entre ellas *Methanobrevibacter*, *Methanobacteriumformicicum*, *Methanomicrumiummobile* y las *Methanosarcinas* entre otras (Monsalve, 2003).

Según los expertos una vaca produce aproximadamente 9 kilos de GEI, encontrándose que contaminan más que un automóvil moderno o un camión pequeño. Por otra parte, se señala al ganado como el responsable del 20% de las emisiones totales mundiales de metano, y en áreas rurales representa el 50% de dicha emisión. Cada vaca emite de 400 a 500 litros de metano al día a través de sus flatulencias (Neofronteras, 2005). De acuerdo con los resultados obtenidos en varios experimentos, una vaca de alta producción emite un estimado de 464 g de metano diario (Hollmann *et al.*, 2012) datos ligeramente superiores que 390 a 450 g de metano diario reportados anteriormente (Johnson *et al.*, 2002).

Las bacterias ruminales son las encargadas de la hidrólisis de la fibra y otros polímeros insolubles vegetales que no pueden ser degradados por las enzimas del animal; son fermentados a AGV, principalmente acético, propiónico y butírico, y a gases CO₂ y CH₄. Los AGV atraviesan las paredes del rumen y pasan a la sangre, luego son oxidados en el hígado y pasan a ser la mayor fuente de energía para las células. Además de las funciones digestivas, los microorganismos del rumen sintetizan aminoácidos y vitaminas del complejo B. (Medrano, 1992)

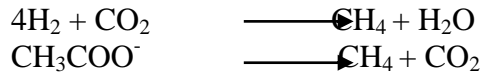
Para (Van Kessel y Russell, 1996) la producción de gas metano por parte de las bacterias metanógenas está en dependencia del pH del rumen, las dietas forrajeras de baja calidad no causan una significativa disminución en el pH ruminal y están asociadas generalmente a una alta producción de metano. Mientras que las dietas con altos contenidos de alimentos concentrados, generalmente reducen la producción de metano, pero solo si el consumo es lo suficientemente alto para causar una reducción en el pH ruminal.

La rumia es un proceso relevante en la dinámica de la regulación del pH debido al gran aporte de saliva al medio. Durante este proceso se aporta tres veces más saliva que cuando se produce la masticación. El tiempo de rumia es afectado por el tipo de alimento y sus propiedades físicas y químicas (Makkar y McSwiney, 2005).

Las poblaciones de protozoarios son responsables de cerca del 25% de la actividad celulolítica en el rumen y ayudan a mantener el pH más alto debido a que consumen gránulos de almidón. Su remoción tiende a decrecer las pérdidas de metano y a producir un incremento en el flujo de proteína microbiana hacia el tracto posterior (Mould *et al.*, 2005)

Se ha determinado que entre los factores que influyen en la producción de metano están las características físicas y químicas del alimento, las cuales afectan directamente el nivel de consumo y la frecuencia de alimentación. Por esto se dice que una subnutrición contribuye a incrementar los niveles de emisión de metano (Montenegro y Abarca, 2000)

Según Weimer (1998) la producción de metano en la naturaleza se realiza principalmente por dos vías:



Para Carmona *et al* (2005) En el rumen la producción de metano se realiza principalmente por la primera vía, debido a que este requiere menos tiempo para la generación de las poblaciones (4 a 12 horas). Mientras que en la segunda vía, denominada acetilclástica, no tiene tanto efecto debido a que los tiempos de generación para las poblaciones metanógenas deben ser mucho más.

Al parecer los dos principales factores responsables de las variaciones en la producción de metano son: por un lado, la cantidad de carbohidratos fermentados en el retículo - rumen. Este mecanismo tiene diversas interacciones dieta – animal que afectan el balance entre las tasas de fermentación de estos carbohidratos y la tasa de pasaje. El otro mecanismo regula la producción de hidrógeno y la subsecuente producción de metano a través de la relación de AGV´s (Ácidos grasos volátiles) producidos (Johnson y Johnson, 1995)

Se ha reportado que el 87% de la producción de metano se dá en el rumen, y el 13% en el tracto digestivo posterior, de este aproximadamente el 89% se absorbe hacia la sangre y es expirado a través de los pulmones. Lo cual indica que cerca del 98% del total de metano producido por los rumiantes puede ser expirado a través de la boca y los orificios nasales (Mc Caughey *et al.*, 1999).

3.2.3. Emisiones Dióxido de carbono al medio ambiente. (Castro y Amador, 2006) afirman que el dióxido de carbono (CO₂) es el gas de invernadero más abundante que ocasiona el efecto invernadero en la atmosfera terrestre. Su ritmo de aumento no tiene precedentes en la historia del hombre. La mayor parte de la acumulación de dióxido de carbono en la atmosfera tiene como origen actividades antropogénicas. Dentro de estas actividades encontramos el cambio del uso del suelo (Deforestación para uso agrícola y ganadero principalmente), la actividad industrial y el transporte, entre otras.

3.2.4. Emisiones de gases desde el suelo – Óxido Di nitroso (N₂O). Los fertilizantes químicos nitrogenados, poseen la capacidad de ciclar más rápido en los sistemas agrícolas de los trópicos, los niveles de humedad del suelo y altas temperaturas aumentan la velocidad de los procesos microbianos, responsables del reciclaje del nitrógeno. En suelos tropicales pobres con bajos contenidos en materia orgánica, la pérdida es más grande que en suelos profundos de clima templado. Lo enunciado permite confirmar, que las emisiones de Óxido Di nitroso (N₂O) son más grandes en los trópicos que en los climas templados (Veldkamp 1997, Davinson 1997, Duxbury 1995).

Los excesos en los programas de fertilización nitrogenada, aumentan su disponibilidad para los procesos de nitrificación y desnitrificación. Aumentando la tasa de emisión de óxido Di nitroso desde el suelo.

3.3. LA TÉCNICA *In vitro* DE PRODUCCIÓN DE GASES

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 y colaboradores (1979, 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 incuba el sustrato en un medio buffereado 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 and Schofield, 1993; Theodorou *et al.*, 1994; Cone *et al.*, 1994; Mauricio *et al.*, 1999).

La técnica de producción de gases determina la extensión y la cinética de degradación de alimentos a través del volumen de gas liberado, directamente como un producto de la fermentación, principalmente cuando se produce mayor proporción molar de acetato y butirato, e indirectamente desde la neutralización del fluido ruminal. Al igual que otras técnicas de bioensayo, emplea sustratos molidos, medio anaeróbico, temperatura de 39° e inóculo ruminal. La técnica puede medir el volumen del gas a presión atmosférica constante, la presión del gas a un volumen fijo, o hacer una combinación de ambos procedimientos; disponiendo para tal efecto de metodologías manuales, semiautomática y automáticas. Los perfiles de producción del gas obtenidos pueden ajustarse a diferentes ecuaciones para resumir la información cinética, permitiendo la comparación de los sustratos, la evaluación de diferentes ambientes de fermentación y la obtención de las tasas de fermentación de los constituyentes solubles y estructurales. Entre los factores que afectan la producción de gas se encuentra el tipo de sustrato e inóculo, la especie animal donadora del inóculo, su alimentación, el pH del medio y el tampón empleado. Una de la técnica es que precisa animales fistulados en el rumen para la obtención del inóculo, por lo que varios trabajos de investigación han evaluado la utilización de las heces como inóculo alternativo. (Posada, 2006)

El uso de heces depuestas como fuente de inóculo para la evaluación de alimentos ha demostrado su utilidad (Mauricio *et al.*, 2001 y Van Thu, 2003), lo que permite valoraciones similares a las que se obtienen con líquido ruminal y se evita así el stress y los daños a la integridad física de estos para la obtención de dicho líquido (Martínez *et al.*, 2005).

3.3.1. Medición de presión del gas. La cinética de producción del gas puede medirse de una forma más precisa mediante el uso de transductores de presión y variantes del sistema descritos por Pell y Schofield (1993), Davies *et al.*, (1995) y Cone *et al.*, (1996)

3.3.2. Medición del volumen del gas. Uno de los métodos para realizar las mediciones del volumen del gas se realizó por McBee (1953), en el cual se mide la cantidad de agua desplazada debido a la acumulación de gas, otro es el desarrollado en la Universidad de Holhenheim en Alemania por Menke *et al.*, (1979); Menke y Steingass (1988) donde se realiza el uso de jeringas de vidrio, en las que el embolo se desplaza en la medida en que la presión de gas incrementa.

Mauricio *et al.*, (2003) afirma que existe un volumen de gas desconocido disuelto en la fase líquida de los frascos de incubación. Por tal motivo Posada *et al.*, (2006) recomiendan establecer una ecuación de regresión que relacione presión y volumen de acuerdo a las condiciones de altura sobre el nivel del mar, específicamente para el laboratorio donde se realizará el estudio, dicha ecuación se estableció teniendo en cuenta las condiciones del laboratorio de la Universidad de Nariño. El mismo autor afirma que las lecturas de presión y volumen pueden hacerse una sola vez en el laboratorio estableciendo una ecuación cuyos puntos provengan de la fermentación de sustratos variados que incluyan leguminosas, gramíneas y concentrados.

3.4 ALTERNATIVAS PARA REDUCIR LAS EMISIONES DE METANO

A continuación se da a conocer algunos métodos usados para procurar reducir la producción de gases efecto invernadero a nivel de finca, entre ellas se destacan:

3.4.1. Asocio de praderas con sistemas silvopastoriles. La utilización de plantas como árboles y arbustos de leguminosas se presenta como un método promisorio para la manipulación de la población protozoaria, estos vegetales presentan en su composición química metabolitos secundarios, como una forma de defensa de los mismos a las condiciones de estrés ambiental. Entre los metabolitos secundarios que se han indicado que pueden ejercer poder reductor de la población protozoaria se encuentran los polifenoles totales, taninos condensados y las saponinas. (Galindo y Marrero, 2005)

3.4.2. Adición de grasas y aceites a la dieta. Es un método que se ha empleado con el objetivo de incidir en los mecanismos de biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados, el aumento de la producción de ácido propiónico y la inhibición de los protozoos (Disminuyendo bacterias metanógenas), así mismo la adición de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga disminuye la metanogénesis por que se convierte en una alternativa metabólica para el hidrógeno. Carmona *et al.*, (2005)

La inclusión de grasa en la dieta para aumentar la densidad energética es una alternativa para suplir esta demanda, sin embargo los altos niveles de grasa en la dieta (> 6% de grasa como porcentaje de la MS) tienen efectos negativos sobre la digestibilidad de la fibra en el rumen, los cuales están asociados con la inhibición de la actividad microbiana, particularmente de los microorganismos celulolíticos y metanogénicos (Johnson y McClure, 1973; Devendra y Lewis, 1974) por acción directa de los ácidos grasos en la membrana celular de los microorganismos o por efectos indirectos de una reducción de la disponibilidad de Ca^{2+} y Mg^{2+} (Davison y Woods, 1963; Palmquist, 1984)

3.4.3. Adición de ionóforos. Los antibióticos ionóforos, constituyen aditivos que se utilizan con el fin de manipular la fermentación microbiana ruminal (Mazza *et al.*, 2000, De Rezende *et al.*, 2002 y Houlihan y Russell 2003).

De acuerdo con Johnson y Johnson (1995); Moss y Givens (2000) la adición de ionóforos puede reducir entre el 5 – 6% el consumo de alimento, igualmente disminuye la relación acetato: propionato y consigu disminuye las emisiones de metano. Los mismos autores afirman que la reducción de metano en dietas de animales suplementadas con ionóforos podría atribuirse al bajo consumo de alimento (Cuando es de alta calidad), esto se debe al incremento de la eficiencia fermentativa y no por un efecto directo en las poblaciones metanógenas.

3.4.4. Procesamiento de fuentes forrajeras. Entre los métodos que favorecen significativamente la reducción en la emisión de metano se tiene el picado y peletizado, al parecer se debe a que tienen una mayor tasa de pasaje (Johnson y Johnson, 1995)

3.4.5. Tipo de carbohidrato. El tipo de carbohidrato es otro factor que incide en la producción de metano a través de impactos en el pH y la población microbiana. Los carbohidratos fibrosos producen alta relación acetato: propionato y una alta producción de metano. Con las dietas ricas en almidón se mejora la relación metano/materia orgánica fermentada en el rumen y se favorece la producción de propionato. Moss *et al.*, (2000)

El consumo de materia seca es un importante motor de producción de CH₄ (Hegarty *et al.*, 2007) y es un factor limitante para la producción de leche en la lactación temprana (Kertz *et al.*, 1991).

3.5. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LAS PASTURAS

De acuerdo con Apráez (1994) “El análisis bromatológico basado en la composición química, permite una caracterización y valoración de materiales nutritivos con fines prácticos de dietas o la incorporación de productos desconocidos a las raciones para animales”

Rodríguez (1990) afirma que la composición química indica la concentración de los principales nutrientes de un alimento dado. No obstante, no indica la eficiencia de utilización de estos nutrientes por parte del animal.

En los trópicos, las fluctuaciones en la composición química de los pastos y forrajes son grandes, debido a los cambios drásticos de clima y la pobreza nutricional de los suelos, en especial nitrógeno. Entre los métodos para la determinación de la composición química de los forrajes se tienen: El análisis proximal de Weende y el esquema de análisis de Van Soest. El primero fracciona el alimento en cinco partes; Proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), extracto etéreo (EE), extracto libre de nitrógeno (ELN) y cenizas. Este esquema presenta el inconveniente de no presentar la concentración real de fibra presente en los forrajes (Crowder y Chheda)

El segundo es el fraccionamiento químico Van Soest que consiste en dividir la materia seca de las plantas en dos componentes mediante la determinación de la fibra detergente neutro (FDN). Por un lado, el contenido celular agrupa los constituyentes solubles (azúcares, almidones, fructosanas, pectinas, proteínas, nitrógeno no proteico, ácidos orgánicos, lípidos, minerales y vitaminas) mientras el otro (FDA) representa la pared celular, que agrupa la celulosa, hemicelulosa, lignina y parte de la materia mineral. El método FDN suministra la mejor estimación de la concentración total de la fibra del alimento y está estrecha e inversamente relacionado con la capacidad de consumo de alimento (Yapez y Tamayo, 2003)

De acuerdo con García *et al.*, (2005) el análisis Kjeldhal es la estimación de la proteína total basada en el contenido de nitrógeno orgánico del alimento multiplicado por una constante ($N * 6.25$). La PB incluye la proteína verdadera y el nitrógeno no proteico (NNP), tales como el nitrógeno ureico y el amoniacal. El valor de la PB no suministra la información acerca de la composición en aminoácidos, ni de la digestibilidad intestinal de la proteína o que tan aprovechable es en el rumen.

3.5.1 Componentes del valor nutritivo de los pastos

Pirela (2005) Menciona los siguientes nutrimentos para los pastos:

3.5.2 Proteína cruda. Un contenido bajo de proteína resulta en una disminución del consumo de forrajes. El nivel crítico de la proteína en forrajes tropicales, por debajo del cual limita el consumo, está establecido en 7% (Base seca)

Una característica deseable en los forrajes y otros alimentos es la de proveer una fuente adicional de proteína (proteína sobrepasante) para ser digerida y absorbida en el intestino delgado y que complemente de forma satisfactoria el suministro de aminoácidos procedentes de la proteína microbiana.

3.5.3 Extracto etéreo. Compuestos orgánicos insolubles en agua, que pueden ser extraídos de las células y tejidos por solventes como el éter, benceno y cloroformo. En líneas generables, proveen energía y otros nutrientes y su disponibilidad para el animal es alta, aunque incluye proporciones variables de otros compuestos con poca importancia nutricional. Buena parte del material que es analizado típicamente como grasa en los pastos es, de hecho, algo distinto a las grasas verdaderas.

3.5.4 Carbohidratos. Principales componentes de los forrajes y son responsables de las $\frac{3}{4}$ partes del peso seco de las plantas. Un importante carbohidrato estructural lo constituye la lignina. Este compuesto complejo, heterogéneo y no digerible por los microorganismos ruminales ni por las enzimas intestinales, se encuentra incrustado en la pared celular de los tejidos vegetales. Su contenido aumenta con la madurez, siendo responsable de la digestión incompleta de la celulosa y la hemicelulosa y el principal factor limitante de la digestibilidad de los forrajes. Los carbohidratos no estructurales están disponibles casi el 100% para el animal, al ser digeridos fácilmente por los microorganismos del aparato digestivo y enzimas segregadas por el animal.

3.5.5. Minerales. El contenido de minerales en los forrajes es muy variable ya que depende del tipo de planta, tipo y propiedades del suelo, de la cantidad y distribución de la precipitación y de las prácticas de manejo del sistema suelo-planta-animal.

Con algunas excepciones, los minerales para el crecimiento y producción de los animales son los mismos requeridos por las plantas forrajeras. Sin embargo, las concentraciones normales de algunos elementos en las plantas pueden resultar insuficientes para satisfacer los requerimientos de los animales, mientras que en otros casos, ciertos minerales se encuentran en niveles que resultan tóxicos para los animales pero sin causar ningún daño a las plantas.

4. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 LOCALIZACIÓN.

La investigación se realizó en dos sistemas de la cuenca lechera del municipio de Pasto, departamento de Nariño, sur de Colombia. En cada sistema se muestrearon las praderas de cuatro fincas, realizando su caracterización productiva, botánica, taxonómica y nutricional. De acuerdo al IDEAM, los hatos seleccionados estuvieron geográficamente distribuidos entre los 2600 a 3200 m.s.n.m, temperaturas cercanas a 12°C, 75 a 80% de humedad relativa y precipitación pluvial de 600 a 1100 mm por año. Para Holdridge (1982), corresponde a la zona de vida Bosque Seco Montano Bajo (bs-MB).

Como inóculo se utilizó heces de tres animales obtenidas mediante la técnica *per rectum*, provenientes de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica Obonuco. Los cuales estuvieron alimentados a base de pasturas de *Pennisetum clandestinum*.

Las muestras fueron procesadas en los laboratorios de bromatología de la Universidad de Nariño ubicados en la ciudad universitaria Torobajo, bajo las siguientes coordenadas: 1° 14' 3" de Latitud Norte y 77° 17' 7" de Longitud Oeste del meridiano de Greenwich, a una altura de 2.488 msnm y temperatura ambiental promedio de 12°C.

4.2. METODOLOGÍA

Tipo de investigación: Explicativa de carácter exploratorio.

4.3. VARIABLES AGRONÓMICAS

La evaluación taxonómica y botánica de las praderas presentes en cada finca y sistema productivo fueron determinadas de la siguiente manera:

Recolección e identificación taxonómica de las especies forrajeras. En cada finca se tomaron como mínimo dos ejemplares de las principales especies forrajeras, recopilando información de campo sobre su hábitat, biotipo y algunos caracteres vegetativos y reproductivos no preservables, la metodología estuvo basada en la consulta bibliográfica de las especies presentes, a través de la identificación y la clasificación en campo, acompañándola, mediante claves y los herbarios PSO de la Universidad de Nariño.

Determinación de la composición botánica de las praderas. La edad de corte en promedio para las praderas del ST fue de 28 días y para el SNT de 53 días, para un total de ocho muestras, cuatro en cada sistema, utilizando el sistema de aforos descrito por Sierra (2006), obteniendo 10 kilos de muestra, la que una vez pesada y homogenizada fue manualmente separada cada especie a fin de calcular su porcentaje sobre la muestra global.

Productividad de biomasa de las praderas. Con el fin de referenciar los rendimientos de biomasa en cada una de las praderas se realizaron los respectivos aforos según lo estipulado por Basto y Fierro (1999), utilizando un marco metálico de 50*50 centímetros. Para las praderas del ST la altura promedia fue de 30 cm y para las praderas del SNT fueron de 56 cm, realizando un corte entre 5 a 7 centímetros del suelo.

Periodo de recuperación (PR). El periodo de recuperación fue calculado a través de la cuantificación de los días que pasaron desde un primer corte por pradera, hasta el día que la pastura estuvo lista para la entrada de los animales a pastoreo.

4.4. VARIABLES BROMATOLÓGICAS

Teniendo en cuenta el sistema de aforos descrito por Sierra (2006), en cada finca se tomó una muestra representativa de la mezcla forrajera comúnmente usada como base alimentaria de los animales en estudio, posteriormente, fueron llevadas a los Laboratorios de Bromatología de la Universidad de Nariño, donde se realizó el correspondiente análisis, como sigue:

Análisis bromatológico: Los análisis químicos proximales (AQP), de acuerdo con los procedimientos y recomendaciones establecidas por la A.O.A.C. – OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS (1995) de la siguiente manera:

Contenido de humedad (Método 930.04), proteína cruda por el método de Kjeldahl ($N \times 6.25$) (método 955.04), Cenizas (Calcinación a 600°), (método 930.05), extracto etéreo (método 962.09) y fibra bruta (método 920.39). La energía bruta (EB) fue determinada por medio de bomba calorimétrica, las fracciones de fibra de acuerdo con el método de Goering y Van Soest (1970), y la MS y MO y por la A.O.A.C (1995)

La proteína verdadera se calculó como $(N \text{ total} - N \text{ no proteico}) \times 6,25$.

4.5. MONTAJE Y ADECUACIÓN DE LA TÉCNICA *In vitro* DE PRODUCCIÓN DE GASES.

Colección y preparación de sustratos. Una vez recolectadas las muestras fueron secadas en horno a 65°C durante 72 horas, posteriormente se molieron en un molino estacionario de martillo haciendo uso de una criba de 1mm. Material que sirvió para realizar todos los análisis requeridos en este estudio.

Aislamiento e instalación de materiales y equipos. Siguiendo las recomendaciones planteadas por Mauricio *et al* (1999). La medición de la presión generada por la acumulación de gases en el interior de los frascos se realizó a través de un transductor de presiones con lector digital, conectado a una fuente energética constante de 15 voltios.

La incubación de las muestras se realizó en frascos de vidrio estériles con capacidad de 125 ml. Los cuales, de acuerdo a recomendaciones de Posada *et al* (2006) fueron lavados con abundante agua y secados en una estufa a 110° por 12 horas. Posteriormente, se saturaron con CO₂, para mantener condiciones de anaerobiosis. A cada uno de estos se adicionó 1 g de sustrato seco y molido (Pastura pura o en mezcla), se taparon con tapones plásticos butyky, asegurándolos con sellos de aluminio. Una vez sellados se les ajustó la presión interna a cero, con la ayuda del transductor de presión conectado a una jeringa graduada con capacidad para 50 ml (Menke y Steingass, 1988).

Pesaje de muestras. Para determinar la magnitud y la tasa de fermentación de las dietas ofrecidas en cada sistema y finca, se aplicó el método de producción de gas propuesto por Theodorou *et al.*, (1994), donde cada botella debe contener 1 gramo del sustrato, 4 ml de agente reductor, 10 ml de inóculo y 85 ml de medio, para un total de tres botellas o repeticiones por sustrato, para un total de 24 botellas. Para el caso de los estándares se empleó 1 gramo de muestra de *Desmodiumheterocarpun* y 1 gramo de *brachiariahumidicola*, las cuales fueron donadas por el CIAT, fueron ubicados cuatro estándares por sistema, para un total de 8 frascos en total, los cuales se aprovisionaron de medio de digestión e inóculo más no sustrato. Los horarios de lectura fueron las horas (0, 3, 6, 12, 24, 48 y 72 de fermentación)

Preparación de reactivos. De acuerdo a experiencias reportadas por Narváez y Delgado (2011), Mauricio *et al.*, (2001) quienes recomiendan que la preparación de medio de digestión o cultivo para 100 frascos, debe realizarse un día antes de la inoculación e inicio de la prueba de la siguiente manera:

Solución buffer: En 3400 ml de agua destilada calentada previamente a 39° se adicionaron 13,6 g de bicarbonato de amonio (NH₄HCO₃) y 119 g de bicarbonato de sodio (NaHCO₃) mezclando hasta obtener una solución uniforme. Solución que fue rotulada como solución 2 y refrigerada para su posterior uso.

Solución macro-mineral: En otro recipiente con 3400 ml de agua destilada calentada previamente a 39 ° se adicionaron 15,2 g de hidrógeno fosfato disódico ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), 21,08 g de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4) y 2,04 g de sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), identificándola como solución 3.

Solución micro-mineral: En 10 ml de agua destilada se adicionaron 1,32 g de cloruro de calcio dihidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 1 g de cloruro manganoso tetrahidratado ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), 0,1 g de cloruro de cobalto hexahidratado ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) y 0,8 g de cloruro de hierro hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), se mezcló uniformemente.

Solución de Resazurín: En 25 ml de agua destilada se disolvieron 0,025 g de resazurín.

Agente reductor: En 400 ml de agua destilada se mezclaron 2,5 g de cisteína, 16 ml de hidróxido de sodio (NaOH) (1M) y 2,5 g de sulfuro de sodio (Na_2S). Si no se dispone de NaOH (1M), se puede preparar mediante dilución de 4 g de NaOH en 100 ml de agua.

Medio de digestión: La solución 1 constaba de 1681 ml de agua destilada, al que se adicionaron 3,4 g de peptona trypticase y 1,7 ml de solución micro-mineral, se homogenizó completamente. Es recomendable usar peptona liofilizada debido a su facilidad para disolverse en el agua.

Una vez listas las soluciones 1,2 y 3, junto con la solución resazurín y el agente reductor, se procedió a mezclarlas en un recipiente amplio en el siguiente orden y cantidades:

- 1681 ml de solución 1.
- 3400 ml de la solución 2.
- 3400 ml de la solución 3.
- 17 ml de solución resazurín.

Después de su homogenizado se continuó con un saturado con CO_2 por espacio de 5 – 10 minutos hasta obtener una leve tonalidad rosada, se almacenó en refrigeración para evitar su fermentación.

Se trabajó de acuerdo a las recomendaciones realizadas por Ceballos *et al.*, (2008) quienes recomiendan que cinco horas antes de la incubación, las garrafas deben ser removidas del refrigerador y llevarlas a una estufa de ventilación forzada a 39 °.

Cada botella incubada fue gaseada con ayuda una manguera de 2 metros de longitud y 0,3 cm de diámetro, acoplada al regulador del tanque de CO₂, agregando posteriormente 85 ml de la de la mezcla realizada, cada botella contenía un gramo del sustrato a evaluar (Theodorou *et al* 1994), adicionando 4 ml de solución reductora, obteniendo una coloración rosada.

Los frascos provistos de sustrato, el medio y la solución reductora, fueron sellados con tapones plásticos asegurados con sellos de aluminio. Finalizado dicho procedimiento, se llevaron a refrigeración a una temperatura media de 4⁰.

4.6. CARACTERÍSTICAS DE LOS ANIMALES DONANTES DEL INÓCULO

El estudio contempló la colecta de heces mediante la técnica *per rectum*, a 3 vacas donantes del inóculo de la raza Holstein mestizas adultas, provenientes del Centro de Investigación Corpoica en Obonuco, donde la base de su alimentación estuvo compuesta por pasturas de *Pennisetum clandestinum*, *Holcus lanatus*, sal mineralizada y agua a voluntad.

A continuación se dan a conocer algunos parámetros de selección de los animales:

Tabla 1. Características generales de los animales donantes del Inóculo fecal.

No. Animales donantes	3
Especie:	Bos taurus
Raza:	Holstein mestizo
Sexo:	Hembras
Peso corporal:	350 a 450 kg
Estado sanitario:	Animales clínicamente sanos*
Etapas productiva	Hembras no gestantes – no lactantes

*Certificación sanitaria de un Médico Veterinario. TP.

Colección y preparación de inóculos. Las heces fueron colectadas mediante la técnica *per rectum* y depositadas en una garrafa térmica precalentada con agua a 39 °, e inmediatamente se transportaron al Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad de Nariño distante a 20 minutos del sitio de recolección de la muestra.

En laboratorio, las heces frescas fueron mezcladas y luego agitadas con un bastón de vidrio en una proporción de 2 a 1, es decir dos partes de inóculo inoculo fecal por una de solución tampón. En la práctica corresponden a 300 ml de inóculo fecal diluido en 150 ml de tampón anaeróbico. La suspensión resultante se filtró a través de dos paños de algodón para eliminar el material residual de mayor tamaño. Los sólidos que permanecieron en el paño fueron homogenizados en

licuadora con otros 150 ml de la misma solución tampón, de acuerdo a lo reportado por Posada *et al.*, (2006).

De acuerdo con Theodorou *et al.* (1994), el licuado se realiza con el objetivo de garantizar que el inóculo resultante estuviera compuesto por microorganismos ruminales adheridos y no adheridos a la fibra.

El material obtenido se puso en un recipiente mantenido en baño maría a 39 ° y fue continuamente saturado con CO₂, procedimiento que permite una mayor supervivencia de la población microbial presente.

Cada uno de los frascos contenía:

- 1 gramo de muestra (Forraje o mezcla de forrajes secos y molidos).
- 85 ml de medio de digestión.
- 4 ml de agente reductor.
- 10 ml de Inoculo.

Inoculación de sustratos. Los frascos o muestras se aclimataron a 39 ° en baño maría, con su respectivo sustrato, el medio de digestión y el agente reductor, posteriormente se inyectaron 10 ml de inoculo fecal. La incubación de los sustratos inició en horas de la mañana.

Lecturas de presión y volumen del gas: La presión formada al interior de los frascos se midió en libras por pulgada cuadrada (PSI), mediante el uso de un transductor digital de presiones conectado a través de una aguja acoplada a una válvula insertada al tapón plástico del frasco. Para la medición de volumen, los gases acumulados en la parte superior se retiraron con ayuda una jeringa graduada (Menke *et al.*, 1979) al momento que la presión registrada en el lector digital llegó a cero fueron registrados. La estimación del volumen de gas a partir de valores de presión se realizó teniendo en cuenta la ley de los gases de Boyle y Gay-Lussac, donde: $P_G = (V_s/P_a)*P_t$, siendo P_G = Producción de gases (ml); V_s = Volumen de gases en la parte superior del frasco (ml); P_a = Presión atmosférica (psi) y P_t = Presión obtenida en el transductor (psi).

En este sentido, Posada *et al.*, (2006) recomiendan establecer una ecuación de regresión entre presión y volumen de acuerdo a las condiciones altitudinales del laboratorio donde se realizará el estudio. Ecuación que fue establecida por Narváez y Delgado (2011) en los laboratorios de la Universidad de Nariño. La cual permitió calcular el volumen de gas producido durante el proceso de fermentación.

La ecuación utilizada fue:

$$Y = -0,02402 + 5,53182X + 0,00479 X^2 \quad R^2 = 0,97 \quad \text{Narváez y Delgado (2011)}$$

Los horarios de lectura se realizaron en la hora 0, 3, 6, 12, 24, 48 y 72 del proceso, obteniéndose como resultado seis intervalos de evaluación, 0 a 3, 3 a 6, 6 a 12, 12 a 24, 24 a 48 y 48 a 72 h. Datos registrados digitalmente para su posterior análisis.

Determinación de metano a través de cromatografía de gases. Para estos efectos, una botella adicional fue colocada por cada sustrato. De estas se tomaron muestras de gases mediante la succión con jeringa, para depositar la muestra extraída en viales No. 20 de 10 ml. Inmediatamente se refrigeraron a 4° hasta ser analizadas.

Determinación de AGV's a través de derivatización para cromatografía de gases. Culminadas las 72 horas del proceso de fermentación, los frascos adicionales se destaparon y con ayuda de una micropipeta, se tomó una muestra de sobrenadante, posteriormente se depositaron en tubos de ensayo de 10 ml con tapa rosca, inmediatamente fueron refrigerados a 4°.

Finalización de la prueba. A las 9:30 horas del tercer día de incubación finalizó la prueba, y se llevaron a refrigeración para su posterior filtrado.

Filtrado y secado de residuos. Una serie de crisoles fueron provistos con fibra de vidrio en su base, se rotularon, se tararon y pasaron posteriormente a 600°C en mufla y a 105°C en estufa, luego se pesaron para el filtrado de los residuos contenidos en cada botella de incubación. Para el filtrado se empleó un sistema de matraces con orificio de salida lateral, las muestras fueron lavadas con abundante agua y luego llevadas a estufa a 105°C hasta peso constante.

Determinación de la degradabilidad de la materia seca (DMS) y materia orgánica (DMO). Para esto, en el material degradado a la hora 6 y 72 se calculó por diferencia entre el peso inicial de la muestra incubada y los crisoles con residuo tras el secado e incineración en estufa y mufla respectivamente.

Con el propósito de corregir la producción de gas originada en la fermentación del inóculo y el medio, se utilizó una serie de frascos denominadas como blancos, las cuales contenían el inóculo y medio de cultivo pero no sustrato. Donde el promedio de gas registrado por los blancos, fue restado al total de gas producido por los sustratos evaluados, obteniendo de esta manera el total de gas realmente derivado de la fermentación del sustrato. (Pell y Schofield 1993; Schofield 2000)

Cromatografía de gases. Para analizar el metano, las muestras se extrajeron de los viales con una jeringa HeadspaceSoil gas SUPELCO para cromatografía de gases, inyectaron en un cromatógrafo Modelo GC 17A, marca SHIMADZU. Tokio, Japón. Se tomaron 5 ml de muestra de los cuales se inyectaron 0,5. La columna empleada fue una columna apolar Columna DB-WAX (J&W Scientific, 30m*0,25mm*0,25µm). Las temperaturas del puerto de inyección Split/Splieless y detector FID fueron 200 y 250°C respectivamente, se realizó una programación de temperatura de la columna de 30°C (5 min) hasta 200°C a reacción de 30°C/min. Como gas de arrastre se empleó Helio UAP a flujo de columna de 1,0 ml/min. El tiempo de retención del metano fue de 1,80 minutos. El software utilizado para la adquisición y el análisis de la información fue el CLASS VP versión 4,3.

La determinación de AGV's, obtenidas en el sobrenadante de cada botella se sometió al siguiente procedimiento: A los 2 ml de sobrenadante de cada muestra se les adicionó 2 ml de ácido fosfórico al 30% y se refrigeró a 4°C. Tras su refrigeración fueron centrifugadas a 8000 revoluciones (7516) por 10 minutos a fin de separar solidos de líquidos. La fase liquida de cada muestra se puso en nuevos tubos de ensayo y se congelaron por 12 horas.

Posteriormente a cada muestra fueron adicionados 2 ml de éter etílico y se agitó manualmente por 3 minutos liberando gas de forma gradual. Nuevamente las muestras se refrigeraron por 24 horas, al cabo de las cuales se separó la fase etérea de quelatos en los tubos, a cuyas porciones se adicionó 1 ml de solución de NaCl al 10%, se agitó y refrigeró por 3 horas con el fin de permitir mayor diferenciación de la fase etérea.

El equipo de ultrasonido FISHER permitió sonicar las muestras durante 15 minutos a temperatura ambiente, y se separó la fase etérea para el análisis de AGV's.

En el siguiente procedimiento fue derivatizar mediante la adición de 5 ml de metanol ácido clorhídrico al 5% v/v, las muestras se dejaron durante 8 horas a 50°C en baño de aceite controlando la temperatura, posteriormente se adicionó 1ml de agua destilada y 1 ml de n-Pentano de alta pureza (99,99) para separar los esteres metílicos de AGV's. El extracto orgánico se guardó en refrigeración y posteriormente se analizó por cromatografía de gases.

Para el análisis en el cromatógrafo se utilizó una Columna Capilar Supelcowax-10 (Supelco 30m, 0,25 mm, 0,25µm). La programación de temperatura fue de 40°C hasta 130°C (15°C/min) luego hasta 240°C a 30°C/min. Se utilizó un detector FID a 280°C. La temperatura del inyector split 1:10 fue de 250°C y el volumen de inyección de 1µl.

Se realizó inyección de estándares de ácido acético, propiónico, butírico y valérico (Metil esteres) analizados bajo las mismas condiciones.

5. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con el propósito de determinar las diferencias existentes en la producción de gas y metano con los diferentes sustratos, se empleó el diseño de medidas repetidas en el tiempo, haciendo uso del paquete estadístico SAS 9.1, función PROC MIXED. La prueba de Tukey – Kramer ($p \leq 0.05$) permitió ajustar y comparar las medidas; igualmente para la degradación de la MS y MO se usó el mismo procedimiento.

Modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + \lambda_i + \epsilon_{ij} + (T^* t)_{ik} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Observación ijk

μ = Media general

λ_i = Efecto del tratamiento

$(T^* t)_{ik}$ = Efecto de interacción entre el tratamiento i y el horario k

ϵ_{ij} = Error aleatorio con μ cero y varianza y covarianza entre medias repetidas.

ϵ_{ijk} = Error aleatorio

Bloque 1.

T1. (*Penisetum clandestinum*) sin fertilizar. (Rep 1, Rep 2, Rep 3)

T2. *Pennisetum clandestinum* fertilizado. (Rep 1, Rep 2, Rep 3)

T3. *Holcus lanatus*, *Pennisetum clandestinum*, *Traxacum officinale* y *Rumex crispus*.
(Rep 1, Rep 2, Rep 3)

T4. *Holcus lanatus*, *Pennisetum clandestinum*, *Phalaris sp* y *Rumex crispus*.
(Rep 1, Rep 2, Rep 3)

Bloque 2.

T5. *Samson* y *Sterling*. (Rep 1, Rep 2, Rep 3)

T6. *Samson*, *sterling*, *aubade* y *Trifolium pretense*. (Rep 1, Rep 2, Rep 3)

T7. *Aubade*, *samson*, y *Trifolium repens*. (Rep 1, Rep 2, Rep 3)

T8. *Samson*. (Rep 1, Rep 2, Rep 3)

El paquete estadístico S.A.S 9.1, función PROC REG permitió obtener en condiciones de los Laboratorios de Bromatología de la Universidad de Nariño, una ecuación de regresión entre los valores obtenidos en presión y volumen generados por la fermentación de praderas en siete horarios de evaluación.

Modelo matemático

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_i$$

La comparación entre sistemas lecheros se realizó mediante un diseño de bloques completos al azar, donde las praderas evaluadas estuvieron distribuidas aleatoriamente entre bloques.

Finalmente, se correlacionaron entre sí las variables productivas, bromatológicas, producción total de metano y AGVs usando el paquete estadístico Statgraphics Centurion XV.II.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

6.1. VARIABLES PRODUCTIVAS DE LAS PRADERAS

6.2. PERIODO DE RECUPERACIÓN (PR).

Como se muestra en la tabla 2, el PR de las praderas del SNT fue mayor ($p < 0,05$) al compararse con el ST, el tiempo de las primeras se considera como aceptable, puesto que tradicionalmente son praderas que no reciben labores culturales y manejo agronómico que permitan incrementar su productividad. También obedecerían a una baja disponibilidad hídrica ligada con regulares condiciones fisicoquímicas del suelo. Como se aprecia en la figura 1, el PR presentó una correlación positiva con la concentración de MS (0,94), Hcel (0,92) y FDN (0,81). Estos resultados permiten afirmar que las pasturas más maduras, presentan mayor contenido de carbohidratos estructurales (CE), posiblemente por el incremento de tallos respecto a hojas. Faría-Mármol (2005) afirman que la edad o madurez de los forrajes es el factor de mayor relevancia sobre la calidad nutricional del mismo, esto lo atribuye a que después del estado foliar presentado por la planta, se incrementa notablemente el contenido de materia seca y los componentes orgánicos e inorgánicos sufren cambios continuos. La formación de componentes estructurales (lignina, celulosa y hemicelulosa) se incrementan con la madurez de la planta, aún más rápido que los carbohidratos solubles.

Tal como se aprecia en la tabla 2, las pasturas del ST presentaron PR cortos (28 días en promedio), posiblemente estarían asociados a dos factores: el primero, los programas de manejo (fertilización, riego y agua) presentes en este sistema, y el segundo es la respuesta del factor genético de las pasturas del genero *Lolium* cuando las condiciones físico-químicas del suelo y manejo son las mejores, factores decisivos sobre la disponibilidad y calidad del forraje suministrado. Los periodos de recuperación encontrados este tipo de sistema, concuerdan con los reportados Mera y Ruales (2007) en praderas asociadas de gramínea/leguminosa de trópico alto nariñense.

En este sentido, Lascano y Spain (1988) relacionan el PR con las lluvias, afirmando que la cantidad, frecuencia e intensidad de precipitación pluvial son cruciales en la distribución de las plantas sobre la tierra. La importancia ecológica del agua deriva del efecto en el crecimiento y desarrollo de las plantas, ya que actúa en ellas como contribuyente, solvente, reaccionante y reguladora de su temperatura.

Tabla 2. Productividad de las praderas del sistemas no tecnificados en una cuenca lechera del departamento de Nariño.

	Composición de las praderas	PR (Días)	(t/materia seca/ha-1)
Finca 1	<i>Pennisetun clandestinum fertilizar</i>	63 a	3,9 c
Finca 2	<i>Pennisetun clandestinum fertilizado</i>	41 c	6,7 a
SNT Finca 3	<i>Holcus lanatus, Pennisetun clandestinum, Traxacum officinale, Rumex crispus</i>	48 ab	6,2 a
Finca 4	<i>Holcus lanatus, Pennisetun clandestinum, Phalaris sp, Rumex crispus</i>	60 a	5,8 b
	<i>Promedio</i>	53,0	5,7

Valores que comparten letra vertical no difieren significativamente según prueba T.

Tabla 3. Productividad de las praderas del sistema tecnificado en una cuenca lechera del departamento de Nariño.

	Composición de las praderas	PR (Días)	(t/materia seca/ha-1)
Finca 5	<i>Samson, sterling</i>	30 a	6,4 a
ST Finca 6	<i>Samson, sterling, aubade, Trifolium pratense</i>	27 a	4,3 b
Finca 7	<i>Aubade, samson, Trifolium repens</i>	25 a	7,6 a
Finca 8	<i>Samson</i>	30 a	5,6 b
	<i>Promedio</i>	28	6

Valores que comparten letra vertical no difieren significativamente según prueba T.

6.3. PRODUCCIÓN DE BIOMASA (PB)

En la Tabla 2 y 3, puede apreciarse que la PB de las praderas del SNT fue de 5,7 t/materia seca/ha/corte después de un PR de 53 días y para el ST reportó 6 t/materia seca/ha/corte en un PR de 28 días. Estos resultados permitirían obtener un mayor número de cortes por año en el ST y ofrecer un mayor volumen de biomasa forrajera para consumo animal por unidad de tiempo, es decir, la diferencia productiva radicaría en la precocidad que ofrecen las pasturas del género *Lolium* bajo programas de manejo (fertilización, riego, insumos, inversión de capital) frente a praderas tradicionales de *P. clandestinum*, *H. lanatus* y arvenses con manejo convencional. En este sentido, Bordoli (2009) afirma que la respuesta a la fertilización y refertilización fosfatada usada generalmente en este tipo de praderas con manejo de *Trifolium pratense* y *Trifolium repens* son mayores en periodo invernal.

La PB de las praderas del SNT guardó relación con el PR, es decir, a medida que el PR aumentó, también lo hizo la PB, aspecto que confirma que estos sistemas no realizan actualmente un manejo adecuado de la pastura, en otros términos, se estaría suministrando pasturas con altos PR (maduras), altos contenidos de MS y bajos contenidos nutricionales. Sin embargo, estos valores fueron superiores a los reportados por Hernández (1992) quien encontró en fincas lecheras de Boyacá, *Pennisetum clandestinum* bajo programas de manejo tradicional una producción de 1,3 t/materia seca/ha⁻¹. El antecedente enunciado permite afirmar que la producción y calidad nutricional de *P. clandestinum* puede reducirse ostensiblemente, cuando no reciben un manejo adecuado. Zambrano (2014) afirma que factores como la precipitación pluvial y la humedad de los suelos, son determinantes en la producción de biomasa. Aspectos que están relacionados directamente con la provisión de riego y fertilización en las pasturas que componen al ST. Pues como se sabe, la fertilización es relevante sobre la calidad y disponibilidad de nutrientes para las pasturas.

6.4. COMPOSICIÓN BOTÁNICA

Tabla 4. Composición botánica de dos sistemas productivos en una cuenca lechera del departamento de Nariño.

SISTEMA	FINCA	COMPOSICIÓN DE LA PRADERA
SNT	FINCA 1	<i>Pennisetum clandestinum</i> sin fertilizar 100%
	FINCA 2	<i>Pennisetum clandestinum</i> 100%
	FINCA 3	<i>Pennisetum clandestinum</i> 30%, <i>Holcus lanatus</i> 60%, <i>Traxacum officinale</i> 5% y <i>Rumex crispus</i> 5%
	FINCA 4	<i>Pennisetum clandestinum</i> 30%, <i>Phalaris sp</i> 20%, <i>Holcus lanatus</i> 40% y <i>Rumex crispus</i> 10%
ST	FINCA 5	Samson 50% sterling 50%
	FINCA 6	Samson 30%, sterling 30%, aubade 30% y <i>Trifolium pratense</i> 10%
	FINCA 7	Samson 45%, aubade 45% y <i>Trifolium repens</i> 7%
	FINCA 8	Samson 100%

La composición botánica de las praderas del SNT fue diversa al compararse con el ST, puesto que en las primeras se observaron variedades naturalizadas como *P. clandestinum*, seguido por *H. lanatus*, *Phalaris sp*, *T. repens* y en menor porcentaje algunas arvenses como lengua de vaca (*Rumex crispus*) y diente de león (*Traxacum officinale*), variedades pertenecientes a la familia Polygonaceae, caracterizadas por un rápido crecimiento, producción constante de biomasa, propagación esporádica y bajos costos de mantenimiento. Estas variedades han sido parte natural de la cobertura del suelo y han aportado constantemente a la producción de biomasa y la calidad nutritiva de la pradera, especialmente en sistemas productivos de pequeños ganaderos de trópico alto del departamento de Nariño. Según Teuber (1996), la pradera naturalizada presenta una composición variable, dependiendo de la ubicación topográfica, exposición y lugar geográfico.

Por su parte, la composición botánica de los ST presentó predominio de variedades introducidas del género *Lolium* de origen neozelandés y *Trifolium*. Permitiendo confirmar lo enunciado por Narváez y Delgado (2011) quienes encontraron praderas con el 53.26% de estas variedades en la finca de Chimangual de propiedad de la Universidad de Nariño, ubicada en el distrito lechero de Guachucal. Corroborando también la preferencia de las especies foráneas del género *Lolium* en los sistemas lecheros especializados de trópico alto de Nariño.

6.5. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

La clasificación taxonómica de las especies observadas en las fincas se muestra en la tabla 5. Donde puede apreciarse cuatro familias de mayor relevancia, entre estas se tiene: Gramíneas, Poaceae, Polygonaceae y Asteraceae.

Tabla 5. Clasificación taxonómica de dos sistemas productivos en una cuenca lechera del departamento de Nariño.

PRADERAS NO TECNIFICADAS			
Familia	Orden	Nombre científico	Nombre común
Gramíneas	Graminales	<i>Pennisetum clandestinum</i>	Kikuyo
Poaceae	Poales	<i>Holcus lanatus</i>	Falsa poa o saboya
Poaceae	Poales	<i>Phalaris arundinacea</i> sp- <i>Phalaris</i>	Brasilero
Polygonaceae	Caryophyllales	<i>Rumex crispus</i>	Lengua de vaca o barrabas
Asteraceae	Asterales	<i>Traxacum officinale</i>	Diente de león o chicoria
PRADERAS TECNIFICADAS			
Familia	Orden	Nombre científico	Nombre común
Poaceae	Cyperales	<i>Lolium sp</i>	Samson
Poaceae	Cyperales	<i>Lolium Hybridum</i>	Sterling
Poaceae	Cyperaceae	<i>Lolium sp</i>	Raigrases
Fabaceae	Fabales	<i>Trifolium repens</i>	Trébol blanco
Fabaceae	Fabales	<i>Trifolium pratense</i>	Trébol rojo

Fuente. Herbario Universidad de Nariño.

6.6. CONTENIDO NUTRICIONAL

6.7.1. Materia seca (MS). El porcentaje de MS fue superior ($p < 0,05$) en las praderas del ST (18,1%) frente a las del SNT (15,9). En las praderas del SNT el contenido más alto de MS los presentó *P. clandestinum* sin fertilizar (19,2%) y en las praderas del ST la mezcla compuesta por samson, sterling, aubade y *T. pratense* (22,7%). Los valores más bajos de MS se presentaron en *P. clandestinum* fertilizado (13,1%) y samson (14,4%), de las praderas del SNT y ST respectivamente, presentándose una relación inversa entre fertilización y el contenido de MS (Tablas 6 y 7). En este orden de ideas, la diferencia en los contenidos de MS, puede estar en función de la participación porcentual de cada especie dentro de la pradera, programas de fertilización realizados, estado fenológico de la planta, manejo de la pradera, disponibilidad de agua y nutrientes y las condiciones edafoclimáticas de cada finca.

Tabla 6. Composición nutricional de las praderas del sistema no tecnificados en una cuenca lechera del departamento de Nariño.

Composición de las praderas	MS (%)	PC (%)	PV (%)	FDA (%)	FDN (%)	Cel (%)	Hem (%)	Lig (%)	Ca (%)	P (%)	Mg (%)
<i>Pennisetum clandestinum</i> sin fertilizar.	19,2	17,8	11,4	30,9	64,7	24,2	33,8	5,97	0,33	0,45	0,33
<i>Pennisetum clandestinum</i> fertilizado.	13,1	21	11,4	30,6	53,8	22,4	23,2	7,63	0,36	0,45	0,29
<i>Holcus lanatus</i> , <i>Pennisetum clandestinum</i> , <i>Traxacum officinale</i> y <i>Rumex crispus</i> .	15	15,4	10,7	31,5	52	21,7	20,6	9,46	0,35	0,36	0,27
<i>Holcus lanatus</i> , <i>Pennisetum clandestinum</i> , <i>Phalaris sp</i> y <i>Rumex crispus</i> .	16,2	21	13,4	25,2	56	20,7	30,9	4,13	0,07	0,15	0,1
Promedio	15,9	18,8	11,7	29,6	56,6	22,3	27,1	6,8	0,28	0,35	0,25

MS: Materia seca; PC: Proteína cruda; PV: Proteína verdadera; FDA: Fibra detergente ácido; FDN: Fibra detergente neutro; Cel: Celulosa; Hem: Hemicelulosa; Lig: Lignina; Ca: Calcio; P: Fósforo; Mg: Magnesio.

Tabla 7. Composición nutricional de las praderas del sistema tecnificado en una cuenca lechera del departamento de Nariño.

Composición de las praderas	MS (%)	PC (%)	PV (%)	FDA (%)	FDN (%)	Cel (%)	Hem (%)	Lig (%)	Ca (%)	P (%)	Mg (%)
<i>Samson y sterling</i>	18,9	18,3	11,5	29,3	62,9	24,1	33,6	4,8	0,36	0,43	0,24
<i>Samson, sterling, aubade y Trifolium pratense.</i>	22,7	16,7	10,4	35,9	66,7	26,9	30,8	7,89	0,28	0,38	0,24
<i>Aubade, Samson y Trifolium repens.</i>	16,3	12,6	12,4	32,2	66	23,9	33,7	7,17	0,19	0,46	0,28
<i>Samson</i>	14,4	23,7	17	21,1	53,3	17,1	32,1	3,86	0,09	0,41	0,09
Promedio	18,1	17,8	12,8	29,6	62,2	23	32,6	5,93	0,23	0,42	0,21

MS: Materia seca; PC: Proteína cruda; PV: Proteína verdadera; FDA: Fibra detergente ácido; FDN: Fibra detergente neutro; Cel: Celulosa; Hem: Hemicelulosa; Lig: Lignina; Ca: Calcio; P: Fósforo; Mg: Magnesio.

6.7.2. Proteína cruda (PC) y Proteína verdadera (PV). Como puede observarse en las tablas 6 y 7, el contenido de PC de las praderas del SNT superó en un punto porcentual al ST, presentándose diferencias entre las praderas que integran cada uno de estos ($p < 0,05$).

En el SNT se presentaron diferencias ($p < 0,05$) entre la pradera de *P. clandestinum* fertilizado y *P. clandestinum* sin fertilizar, donde los contenidos de PC fueron del 21 y 17,8%, respectivamente. Los valores superiores en estas praderas pudieron corresponder a la presencia de nitrógeno no proteico (NNP), como respuesta de la aplicación de fertilizante, el cual aumenta de manera clara las concentraciones de proteína en el pasto Rodríguez (1999). Aspecto que presenta una relación inversa con la MS en la pastura. En este sentido, Apráez y Moncayo (2003) informaron que el tratamiento sin fertilización produjo 21% de MS, mientras que el tratamiento con fertilización presentó 15.2%. Los porcentajes de PC encontrados son similares a los informados por Mejía y Ochoa (2014); así como los obtenidos por Apráez y Moncayo (2003); Builes y Gómez (2004), que variaron entre 14.3 y 17%. Dichos autores señalan que la concentración de PC puede aumentar a medida que se elevan las dosis de fertilizante, lo cual puede estimular el consumo de forraje de mayor digestibilidad. Mejía et al., (2014) afirman que la fertilización nitrogenada implica cambios en la calidad nutricional de las pasturas, no visibles para los productores pero generan muchos efectos negativos en los niveles productivos Van Horn

et al., (1994), económicos *Hanigan* (2005) y ambientales *Lapierre et al.*, (2005); dejando en riesgo la sostenibilidad y competitividad de los sistemas de producción.

En las praderas del ST el mayor porcentaje de PC ($p < 0,05$) lo presentó la pradera de samson en monocultivo (23,7%), seguido por la compuesta de samson y sterling (18,3%), valores que pudieron estar relacionados con las características nutricionales de las variedades de *Lolium* cuando se ofrece condiciones favorables de manejo. Datos similares fueron encontrados por Ochoa y Cerón (2005) quienes reportaron 18.3% de PC en establecimiento de *Lolium* con labranza cero, otra referencia son los resultados obtenidos por Vásquez y Mosquera (2013) en un ensayo con pasto samson obteniendo 27.1% PC a los 30 días y 20.9% PC a los 60 días, en praderas fertilizadas con 25 kilos de N por hectárea. Las praderas del ST se caracterizaron por presentar PR cortos, altos contenidos proteína y humedad (suculentos), posiblemente como resultado de su precocidad y la aplicación de riego y fertilizantes nitrogenados.

De acuerdo con lo expresado, Urbano *et al.*, (1995) manifiestan que los principales factores que influyen en la calidad de los pastos son la fertilización y la frecuencia de corte. Con el primero se ha demostrado que el nitrógeno produce aumento en el contenido de proteína cruda, y con el segundo, se ha determinado el porcentaje de proteína de las gramíneas declina rápidamente entre los 40 a 60 días.

Resultados diferentes fueron reportados en estudios *In vitro*, por Lovett *et al.*, (2004) y Navarro-Villa *et al.*, (2011), quienes encontraron una relación lineal negativa entre la aplicación de nitrógeno al suelo y la producción de metano por unidad de MO degradada, posiblemente se deba a una disminución en la degradabilidad de la materia orgánica en pasturas que recibieron niveles crecientes de N y a mayores concentraciones de nitratos. Leng, (2008).

Tabla 8. Diferencia porcentual entre Proteína Cruda (PC) y Proteína Verdadera (PV) de las praderas del sistema no tecnificado.

	PC (%)	PV (%)	PC – PV
<i>Pennisetum clandestinum</i> sin fertilizar	17,8	11,4	6,4
<i>Pennisetum clandestinum</i> fertilizado	21	11,4	9,6
<i>Holcus lanatus</i> , <i>Pennisetum clandestinum</i> , <i>Traxacum officinale</i> , <i>Rumex crispus</i>	15,4	10,7	4,7
<i>Holcus lanatus</i> , <i>Pennisetum clandestinum</i> , <i>Phalaris sp</i> , <i>Rumex crispus</i>	21	13,4	7,6
<i>Promedio</i>	18,8	11,7	7,1

Como se observa en la tabla 8, la pradera de *P. clandestinum fertilizado* mostró el valor diferencial más alto entre PC y PV (9,6), valores que estarían asociados a una pradera joven con elevado contenido de NNP a causa de la aplicación de fertilizante, el cual incrementa directamente la concentración de PC en la pastura, impidiendo de esta manera el abastecimiento suficiente de aminoácidos para síntesis de proteína totalmente conformada. La pradera que mejor resultado mostró en términos proteicos fue la mezcla entre *H. lanatus*, *P. clandestinum*, *T. officinale* y *R. crispus*, debido a que el valor diferencial entre PC y PV fue el más bajo (4,7), valor que posiblemente sea atribuido a una distribución botánica apropiada y un óptimo estado vegetativo, resultando favorable para la consolidación de la proteína a fin de que la planta tenga un desarrollo normal y continuo.

Tabla 9. Diferencia porcentual entre Proteína Cruda (PC) y Proteína Verdadera (PV) de las praderas del sistema tecnificado.

	PC (%)	PV (%)	PC – PV
<i>Samson, sterling</i>	18,3	11,5	6,8
<i>Samson, sterling, aubade, Trifolium pratense</i>	16,7	10,4	6,3
<i>Aubade, samson, Trifolium repens</i>	12,6	12,4	0,2
<i>Samson</i>	23,7	17	6,7
<i>Promedio</i>	17,8	12,8	5

Como se aprecia en la tabla 9, la diferencia más alta entre PC y PV del ST lo presentó la pradera compuesta por samson y sterling. Cifra que al igual que el SNT, supone la presencia de NNP y algunos nitratos a razón de una PC aún no conformada. Por su parte, Cárdenas (2002) menciona que el empleo de praderas con asocio gramínea/leguminosa permite ampliar la gama de aminoácidos e incrementar el rendimiento y calidad frente a una pradera pura, de igual manera se puede reducir o aún suprimir la fertilización nitrogenada, al aprovechar el nitrógeno atmosférico fijado por la leguminosa.

5.7.3. Carbohidratos estructurales. Al remitirnos a las tablas 6 y 7, observamos que el contenido de Fibra Detergente Neutro (FDN) fue superior ($p < 0,05$) en las praderas del ST frente al encontrado en el SNT. Presentaron diferencias ($p < 0,05$) entre las praderas de cada sistema. Para el caso del ST, estos resultados podrían atribuirse a las características de las pasturas del género *Lolium*, el cual incrementa el proceso de lignificación en forma más precoz que las praderas del SNT. En consideración a lo enunciado, una pastura con altos contenido de Fibra Detergente Neutro poseerá un mayor aporte energético, sin embargo se verían afectados los contenidos de proteína y algunas características como su digestibilidad, palatabilidad y emisiones de metano.

En las praderas del SNT, la concentración de FDN mostró una correlación positiva con el contenido de Celulosa (0,76), Hemicelulosa (0,88) y el PR (0,81) (Figuras 1 y 2) valores que permiten asociar altos contenidos de CE con el incremento del PR de las pasturas, posiblemente debido al aumento del número de tallos y su diámetro frente al de hojas con la maduración de la pastura. De acuerdo con lo expresado, Bernal (2003) menciona que en las plantas tropicales, el contenido de FDN (celulosa, hemicelulosa y lignina) se incrementa con la presencia de tallos y pueden variar según época de corte, fertilización y condiciones físico químicas del suelo.

El contenido de FDA no presentó diferencias entre sistemas ($p < 0,05$), sin embargo si las presentó entre las praderas que los conforman. En las praderas del SNT el valor más alto ($p < 0,05$) en FDA lo presentó la mezcla compuesta por *H. lanatus*, *P. clandestinum*, *T. officinale* y *R. crispus*, aspecto que puede inferir en forma negativa sobre la alimentación del animal, esto debido a que está constituida por hemicelulosa y lignina como componentes principales Apráez et al., (2012), relacionándose de manera inversa con la digestibilidad del forraje Calsamiglia (1997). Las praderas de este sistema confirmaron lo enunciado al mostrar una correlación positiva entre la FDA y el contenido de lignina (0,83), suceso que puede ser consecuencia de PR prolongados, una baja digestibilidad de la especie dominante y praderas con un avanzado estado de madures. Tal como se aprecia en la figura 2, la FDA de las praderas del ST presentaron una correlación positiva con el contenido de lignina (0,71) y celulosa (0,90). Estos resultados, permiten afirmar que a mayor contenido de lignina y celulosa en la pastura, el contenido de FDA se incrementará. Reduciendo de forma directa la calidad del forraje para el animal.

En este sentido, (Barahona y Sánchez, 2005) asocian los niveles de lignina con la frecuencia de pastoreo, es decir, que al aumentar el estado de madures de las gramíneas, se incrementa el contenido de los componentes de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y lignina) mientras que el contenido de proteína y la digestibilidad de la MS disminuyen. Según los autores, es necesario establecer, bajo las condiciones de manejo del productor, frecuencias de pastoreo óptimas (PR para el presente estudio), permitiendo obtener un forraje de mayor digestibilidad, sin comprometer la dinámica de los nutrientes de reserva de los pastos, su capacidad de rebrote y la longevidad de la pradera.

Los resultados observados se encuentran dentro de los reportados por Bernal (2003) quien afirma que los componentes de la pared celular incluidos en la fracción Fibra Detergente Neutro constituyen del 40 al 80% de la pared celular, siendo esta mayor en pastos maduros con deficiencia de nutrientes en el suelo.

6.7.4. Minerales.

Como se observa en la tabla 6 y 7, el contenido de Calcio (Ca), fósforo (P) y magnesio (Mg) presentó diferencias para las praderas de los dos sistemas ($p < 0,05$), mostrando contenidos que varían de un rango medio a alto para la mayoría de los casos. De acuerdo con Weiss y Wyatt (2004) el contenido de minerales es muy variable, ya que depende de la planta, tipo y propiedades del suelo, cantidad y distribución de la precipitación, prácticas de manejo y del sistema suelo-planta- animal.

Respecto a minerales como el Ca, se presentó un rango menor en las praderas del ST; mientras que las praderas del SNT fueron mayores. El P registró valores altos en praderas ST frente a las praderas del SNT, los cuales estuvieron dentro de los requerimientos para ganado lechero en producción; de 0,35 a 0,5% de la MS ingerida, (NRC 1996). Resultados que son el producto de la mineralización de MO (Sánchez, 2007). Los contenidos de Mg fueron similares, es decir este mineral se encuentra en cantidad favorable en las praderas de los dos sistemas. Sin embargo, la relación Ca:P mostró un mejor comportamiento en las praderas del ST con un valor de 1:1,83 frente a 1:1,25 en las del SNT. Estos valores permiten evidenciar que a pesar que los dos sistemas son semejantes en minerales, las praderas del ST no presentaron superioridad frente a los SNT, sistemas que deberían mostrar valores de superioridad por tener un manejo tecnificado con una mayor demanda de insumos agropecuarios y altos costos de establecimiento y manejo.

Figura 1. Correlaciones entre variables bromatológicas, productivas y de emisión de GEI de las praderas del sistema no tecnificado.

Composición de las praderas	MS	PC	PV	FDA	FDN	Cel	Hem	Lig	Ca	P	Mg	CH4	VolGas	PR	BiomT/ha	Acet	But	Prop	DMS	DMO	
<i>Pennisetum clandestinum</i> sin fertilizar.	19,2	17,8	11,4	30,9	64,7	24,2	33,8	5,97	0,33	0,45	0,33	112	28,1	63,0	3,9	120,0	190,0	0,0	0,32	0,59	
<i>Pennisetum clandestinum</i> fertilizado.	13,1	21	11,4	30,6	53,8	22,4	23,2	7,63	0,36	0,45	0,29	195	48,8	41,6	6,7	0,0	420,0	0,0	0,52	0,44	
<i>Holcus lanatus</i> , <i>Pennisetum clandestinum</i> , <i>Traxacum officinale</i> y <i>Rumex crispus</i> .	15	15,4	10,7	31,5	52	21,7	20,6	9,46	0,35	0,36	0,27	224	55,9	47,3	6,2	0,0	220,0	0,0	0,38	0,55	
<i>Holcus lanatus</i> , <i>Pennisetum clandestinum</i> , <i>Phalaris sp</i> y <i>Rumex crispus</i> .	16,2	21	13,4	25,2	56	20,7	30,9	4,13	0,07	0,15	0,1	298	74,6	59,0	5,8	0,0	70,0	0,0	0,62	0,35	
MS		-0,27	0,14	-0,07	0,89	0,53	0,84	-0,47	-0,17	-0,02	0,11	-0,45	-0,45	0,94	-0,98	0,87	-0,63	0,00	-0,49	0,45	
PC			0,71	-0,64	0,00	-0,26	0,30	-0,66	-0,51	-0,31	-0,47	0,34	0,34	-0,03	0,25	-0,24	0,12	0,00	0,81	-0,81	
PV				-0,99	0,10	-0,53	0,56	-0,90	-0,96	-0,83	-0,88	0,63	0,64	0,47	-0,02	-0,19	-0,60	0,00	0,79	-0,82	
FDA					0,03	0,65	-0,44	0,83	0,99	0,91	0,95	-0,75	-0,75	-0,41	-0,08	0,31	0,65	0,00	-0,82	0,85	
FDN						0,76	0,88	-0,51	-0,01	0,25	0,31	-0,67	-0,67	0,81	-0,96	0,96	-0,29	0,00	-0,45	0,41	
Cel							0,37	0,12	0,64	0,82	0,85	-0,99	-0,99	0,26	-0,70	0,88	0,32	0,00	-0,78	0,77	
Hem								-0,85	-0,47	-0,21	-0,17	-0,24	-0,24	0,92	-0,82	0,71	-0,57	0,00	-0,02	-0,03	
Lig									0,81	0,58	0,61	-0,25	-0,25	-0,72	0,40	-0,24	0,60	0,00	-0,51	0,55	
Ca										0,95	0,95	-0,74	-0,74	-0,50	0,01	0,25	0,76	0,00	-0,73	0,76	
P											0,98	-0,88	-0,88	-0,33	-0,18	0,46	0,76	0,00	-0,71	0,73	
Mg												-0,92	-0,92	-0,22	-0,29	0,54	0,64	0,00	-0,83	0,85	
CH4													1,00	-0,16	0,63	-0,83	-0,39	0,00	0,83	-0,82	
VolGas														-0,16	0,62	-0,82	-0,40	0,00	0,83	-0,82	
PR															-0,87	0,69	-0,80	0,00	-0,16	0,12	
BiomasaT/ha																-0,95	0,45	0,00	0,58	-0,54	
Acet																	-0,16	0,00	-0,69	0,66	
But																			-0,13	0,17	
Prop																			0,00	0,00	
DMS																					-1,00
DMO																					

Figura 2. Correlaciones entre variables bromatológicas, productivas y de emisión de GEI de las praderas del sistema tecnificado.

Composición de las praderas	MS	PC	PV	FDA	FDN	Cel	Hem	Lig	Ca	P	Mg	CH4	VolGas	PR	BiomTtha	Acet	But	Prop	DMS	DMO	
Samson y sterling	18,9	18,3	11,5	29,3	62,9	24,1	33,6	4,8	0,36	0,43	0,24	274	68,7	26,0	6,4	0,0	420,0	0,0	0,56	0,43	
Samson, sterling, aubade y <i>Trifolium pratense</i> .	22,7	16,7	10,4	35,9	66,7	26,9	30,8	7,89	0,28	0,38	0,24	261	65,3	27,3	4,3	0,0	380,0	1,0	0,54	0,43	
Aubade, Samson y <i>Trifolium repens</i> .	16,3	12,6	12,4	32,2	66	23,9	33,7	7,17	0,19	0,46	0,28	113	28,4	30,6	7,6	120,0	40,0	0,0	0,30	0,60	
Samson	14,4	23,7	17	21,1	53,3	17,1	32,1	3,86	0,09	0,41	0,09	312	78,0	28,3	5,6	0,0	860,0	1,5	0,52	0,42	
MS		0,32	0,18	-0,49	-0,35	-0,31	0,68	-0,75	0,32	0,41	-0,13	0,28	0,29	-0,46	0,42	-0,23	0,23	-0,40	0,29	-0,23	
PC			0,28	-0,26	-0,46	-0,25	-0,87	-0,21	-0,20	-0,93	-0,68	0,84	0,84	-0,49	-0,92	-0,83	0,79	0,90	0,76	-0,85	
PV				-0,86	-0,95	-0,85	-0,35	-0,75	-0,62	-0,41	-1,00	0,76	0,76	-0,19	-0,39	-0,59	0,97	0,83	0,49	-0,63	
FDA					0,96	0,90	0,31	0,71	0,74	0,31	0,99	-0,64	-0,64	0,02	0,30	0,44	-0,91	-0,83	-0,33	0,49	
FDN						-0,04	0,36	-0,59	0,60	0,03	-0,06	0,51	0,52	-0,80	0,04	-0,55	0,28	-0,30	0,63	-0,53	
Cel							0,30	0,07	0,97	0,05	0,57	0,07	0,08	-0,69	0,04	-0,25	-0,32	-0,66	0,38	-0,20	
Hem								-0,87	0,19	-0,12	-0,53	0,76	0,76	-0,73	-0,10	-0,70	0,68	0,12	0,72	-0,71	
Lig									0,25	0,40	0,88	-0,91	-0,91	0,54	0,38	0,78	-0,96	-0,62	-0,73	0,81	
Ca										0,16	0,97	-0,57	-0,56	-0,05	0,14	0,35	-0,87	-0,73	-0,24	0,40	
P											0,86	-0,27	-0,27	-0,37	-0,06	0,04	-0,67	-0,65	0,08	0,09	
Mg												-0,37	-0,37	-0,31	0,13	0,15	-0,73	-0,78	-0,02	0,20	
CH4													0,05	0,60	-0,09	0,14	0,44	0,72	-0,27	0,09	
VolGas														0,60	-0,09	0,14	0,44	0,72	-0,27	0,09	
PR															0,29	-0,36	0,52	-0,08	0,38	-0,38	
BiomasaTtha																0,30	-0,15	0,46	-0,38	0,29	
Acet																	-0,01	-0,56	0,44	-0,31	
But																		-0,11	0,07	0,02	
Prop																			0,00	0,00	
DMS																					-0,98
DMO																					

6.8. EMISIONES DE GEI

6.8.1 Emisión total del gas

Tabla 10. Producción de gas acumulada (ml/g) de las praderas del sistema no tecnificado tras 72 horas de degradación.

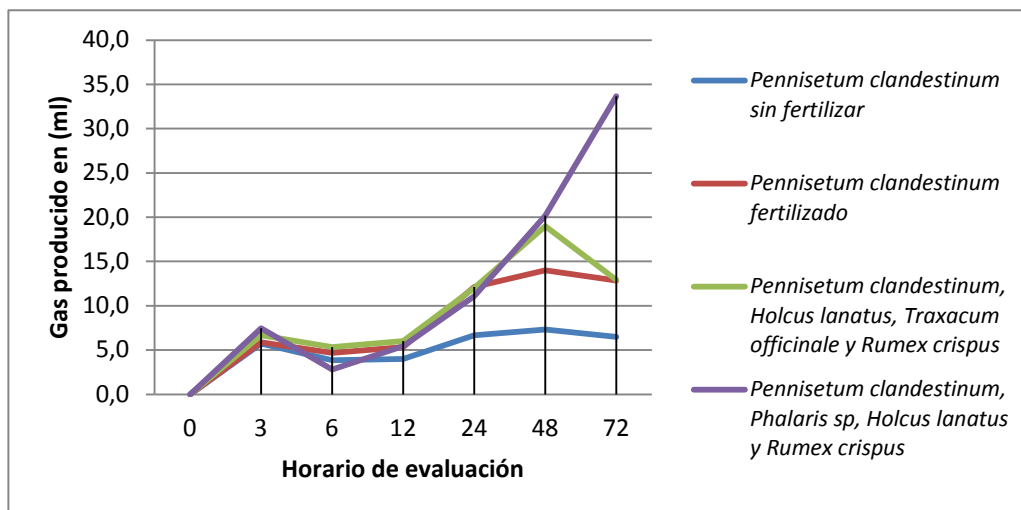
Composición de las praderas	Volumen total del gas (ml/g)
<i>Pennisetum clandestinum sin fertilizar</i>	28,1 c
<i>Pennisetum clandestinum fertilizado</i>	48,8 b
<i>Pennisetum clandestinum, Holcus lanatus, Traxacum officinale y Rumex crispus</i>	55,9 b
<i>Pennisetum clandestinum, Phalaris sp, Holcus lanatus y Rumex crispus</i>	74,6 a
Promedio	51,9

Valores que comparten letra vertical no difieren significativamente según prueba T.

Las tablas 10 y 11 presentan el comportamiento de la cinética de producción total de gas acumulado por las praderas del SNT y ST tras 72 horas de incubación. La producción total de gas fue mayor ($p < 0,05$) para las praderas del ST que para las del SNT (60,1 Vs 51,9 ml/g). Esta condición permite afirmar que las praderas del ST emitieron un 16% más de volumen de gas que el SNT. En las praderas del SNT la producción total de gas estuvo correlacionada positivamente (0,83) con la DMS. Resultados que permiten inferir que a mayor porcentaje en DMS de la pastura, se obtiene un mayor volumen de gas, pues como se sabe, la producción de gas está en función del grado de fermentación o degradación del material fibroso de la pastura.

Por otra parte, las praderas del ST presentaron una correlación positiva del volumen de gas con PC (0,84) y PV (0,76), resultados similares a los encontrados en las emisiones de metano, los cuales concluyeron que un contenido relevante de PC y PV estarían representados por un incremento en las emisiones de metano, especialmente cuando se tienen elevados contenidos de NNP.

Gráfica 1. Producción de gas (ml/g) en diferentes horarios de evaluación de las praderas del sistema no tecnificado



La gráfica 1 representan la producción total de gas de las praderas del SNT tras 72 horas de degradación, presentando un comportamiento semejante desde la hora 0 a 12 de degradación. (Menke *et al.*, 1979 y Mauricio *et al.*, 2001). Aseveran que esta poca diferenciación puede deberse a la necesaria fase de adaptación (lag) de los microorganismos al nuevo sustrato. La gráfica muestra a la hora 48 de degradación como el pico de producción de gas, resultado que pudo indicar la finalización del proceso fermentativo de la pastura por parte de microorganismos. Tras este proceso, la actividad microbiana disminuye y con ello la producción de gas decae en tres de las cuatro praderas evaluadas.

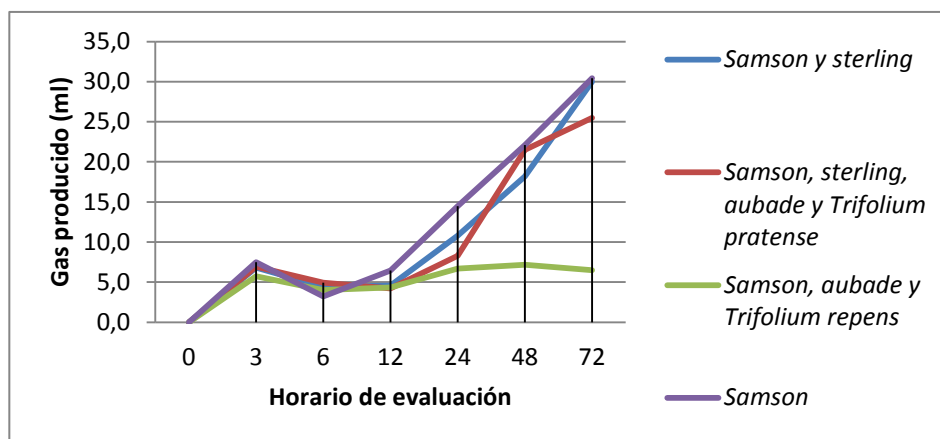
La mayor producción de gas de las praderas de este sistema lo presentó la mezcla de *P. clandestinum*, *Phalaris sp*, *H. lanatus* y *R. crispus*, valores que pueden asociarse con relevantes contenidos de MS, maduras de la planta y prolongados PR, los cuales junto con significativos valores en DMS, mostraron incremento en la producción de gas como producto de la fermentación microbiana. La emisión de gas de pradera fertilizada fue mayor que la pradera sin fertilizar ($p < 0,05$), resultado que puede estar asociado con niveles significativos de NNP.

Tabla 11. Producción de gas acumulada (ml/g) de las praderas del sistema tecnificado tras 72 horas de degradación.

Composición de las praderas	Volumen total del gas (ml)
<i>Samson y sterling</i>	68,7 b
<i>Samson, sterling, aubade y Trifolium pratense</i>	65,3 b
<i>Samson, aubade y Trifolium repens</i>	28,4 c
<i>Samson</i>	78,0 a
Promedio	60,1

Valores que comparten letra vertical no difieren significativamente según prueba T.

Gráfica 2. Producción de gas (ml) en diferentes horarios de evaluación de las praderas del sistema tecnificado.



Como puede observarse en la tabla 11 y gráfica 2, la producción total de gas del ST mostró un comportamiento similar desde la hora 0 a 24 incubación, presentándose un incremento constante que supera a la hora 72 de incubación en tres de las cuatro praderas del sistema. Posiblemente, el pico de producción de gas de las pasturas neozelandesas se encuentra en un horario de lectura mayor. (gráfica 2). Finalmente se puede concluir que la menor producción total de gas lo presentó la pradera compuesta por la mezcla de samson, aubade y *T. repens* (28,4 ml), pastura que presenta las primeras 24 horas de incubación un comportamiento similar. Mostrando el pico máximo de producción de gas en la hora 48, al igual que en las praderas del SNT. La producción de gas presentó una correlación positiva alta con la emisión de metano (0,99) en las praderas de los dos sistemas lecheros.

6.8.2 Emisiones de metano (CH₄).

Tal como se aprecia en las tablas 12 y 13, la producción de metano fue mayor ($p < 0,05$) en las praderas del ST que las del SNT (240 Vs 190 ml de CH₄/kg/MS), presentándose diferencias ($p < 0,05$) entre las praderas que conforman cada sistema. El valor mostrado por las praderas del ST representa un 26% más emisiones de metano que el SNT. La mayor emisión de metano del ST puede atribuirse en gran medida, a una relevante concentración de carbohidratos estructurales, altas tasas de DMS y cantidades considerables NNP en este tipo de praderas, componentes hacen parte de la composición botánica, estados fisiológicos de la pastura y programas de fertilización realizados en este sistema.

Vargas *et al.*, (2012) Afirman que han sido muy pocos los trabajos enfocados en reconocer las diferencias en las emisiones de metano entre diferentes variedades de una misma especie. Haciéndose posible que las diferencias en la calidad nutricional de cada variedad dentro de cada especie puedan modificar las emisiones de metano. Clark *et al.*, (2005) afirman que en animales alimentados con forrajes tropicales se produce más metano (>8%) por unidad de energía bruta consumida que con aquéllos en zonas templadas (7%) debido a una mayor proporción de carbohidratos estructurales. Además en forrajes tropicales y templados no se ha encontrado una clara asociación entre los componentes de la dieta y la producción de metano.

De ahí que (Czerkawski, 1969; Holter y Young, 1992) encontraron que los carbohidratos estructurales (celulosa, hemicelulosa) son fermentados a un ritmo menor que los no estructurales (almidón, azúcares), produciendo más CH₄ por unidad de sustrato fermentado. Respecto al tema, Van Soest (1994); Johnson & Johnson (1995) afirman que los alimentos ricos en fibra fermentados en rumen, muestran aumentos tanto en la producción de ácido acético, como en las pérdidas de energía en forma de CH₄.

En este sentido, podría afirmarse que las praderas de ST estarían presentando mayores pérdidas de energía, representadas por las emisiones de metano ($p < 0,05$), y con ello, la reducción de su aporte energético para el animal. Carmona *et al.*, (2005) señalan a las emisiones de metano como signo de pérdida de energía potencialmente utilizable, la cual representa entre el 5,5 y 6,5% del total de energía potencial consumida en la dieta. Montenegro y Abarca (2002) se refieren a la emisión de metano en bovinos como un proceso digestivo ocurrido bajo condiciones anaeróbicas, donde participan diferentes tipos de bacterias encargadas de degradar la celulosa ingerida a glucosa, que fermentan después a ácido acético y reducen el dióxido de carbono, formando metano en el proceso.

Tabla 12. Producción total de CH₄ (ml/kg de MS) de las praderas del sistema no tecnificado en una cuenca lechera del departamento de Nariño.

Composición de las praderas	CH ₄ (ml/kgMS)
<i>Pennisetum clandestinum sin fertilizar</i>	112 c
<i>Pennisetum clandestinum fertilizado</i>	195 b
<i>Pennisetum clandestinum, Holcus lanatus, Traxacum officinale y Rumex crispus</i>	224 b
<i>Pennisetum clandestinum, Phalaris sp, Holcus lanatus y Rumex crispus</i>	298 a
Promedio	190

Valores que comparten letra vertical no difieren significativamente según prueba T.

Tabla 13. Producción total de CH₄ (ml/kg de MS) de las praderas del sistema tecnificado en una cuenca lechera del departamento de Nariño.

Composición de las praderas	CH ₄ (ml/KgMS)
<i>Samson y sterling</i>	274 b
<i>Samson, sterling, aubade y Trifolium pratense</i>	261 b
<i>Samson, aubade y Trifolium repens</i>	113 c
<i>Samson</i>	312 a
Promedio	240

Valores que comparten letra vertical no difieren significativamente según prueba T.

Como se observa en las gráficas 1 y 2, la emisión de CH₄ mostró una correlación positiva perfecta (1.0) con la DMS del SNT. Valor que permiten afirmar que una mayor DMS en las pasturas, estaría representada por un incremento en la producción de CH₄, como resultado de la fermentación llevada a cabo por microorganismos presentes en el proceso. Janssen (2010) menciona que el CH₄ es producido en el rumen por un grupo particular de microorganismos pertenecientes al dominio *Archaea*, los cuales usan hidrogeno (H₂) para reducir el dióxido de carbono (CO₂) a CH₄, manteniendo una presión baja de H₂ que favorece la fermentación de los alimentos.

Para el caso de las praderas del ST, la emisión de CH₄ estuvo correlacionada en forma positiva con el contenido de PC (0,84) y PV (0,76). Estos resultados, permiten afirmar que un contenido relevante de PC y PV en las pasturas, representará un incremento en las emisiones de metano, especialmente cuando el valor diferencial entre PC y PV es alto, pues como se sabe, este valor está representado por la presencia de NNP, como resultado de pasturas tiernas (aguachentas) y programas de fertilización nitrogenada, presentes en este tipo de sistemas. Navarro-Villa *et al.*, (2011) reportaron una disminución de 7% en la producción de metano por unidad de MS incubada al comparar trébol respecto a ryegrass perenne.

Las praderas de los dos sistema productivos presentaron asocio de gramínea/leguminosa y/o arvense, sin embargo esta relación no mostró reducción en las emisiones de metano. De acuerdo con Vargas *et al.*, (2012), no todos los estudios con leguminosas de zonas templadas han mostrado disminución en las emisiones de metano. Estudios reportados por Waghorn *et al.*, (2002); De Klein *et al.*, (2008) y O'Mara *et al.*, (2008) han mostrado aumentos en las emisiones de metano por unidad de MS consumida al incluir una

leguminosa en la dieta, debido a un mayor consumo voluntario, aumento en digestibilidad de la dieta y modificación de los patrones de fermentación asociados a la inclusión de leguminosa.

Para De Klein (2008) la inclusión de leguminosa en la dieta podría disminuir la producción de metano por unidad de MS consumida hasta en un 53%. Estos resultados podrían asociarse a una baja concentración de taninos en las especies que conformaron la pradera, que aunque no fueron evaluados en el estudio, estarían afectando la emisión de metano. Para Cortés *et al.*, (2009) y Jakmola *et al.*, (2010) Este suceso es atribuido a ciertas sustancias denominadas taninos, los cuales son capaces de ligarse a compuestos como proteínas y carbohidratos. Disminuyendo la degradabilidad de algunos nutrientes de la dieta, inhibir la actividad enzimática, reducir la población protozoaria o de bacterias celulolíticas y por consiguiente disminuir la producción de metano Johnson *et al.*, (2007); Hess *et al.*, (2008); Tiemann *et al.*, (2008). Otro aspecto a tenerse en cuenta es la posible ausencia de saponinas en las leguminosas, las cuales pudieron reducir la tasa de producción de metano, debido a su alto peso molecular. Guo *et al.*, (2008).

El contenido de carbohidratos estructurales de las praderas del ST estaría relacionado con la emisión de CH₄. Donde los forrajes maduros tienen una mayor concentración de carbohidratos estructurales Sun *et al.*, (2010), relacionándose directamente con una mayor producción de metano Jayaneagara *et al.*, (2009). En este sentido, ecuaciones desarrolladas por Moe y Terrell (1979) evaluando 404 ensayos desarrollados con ganado de leche, sugieren que dietas a base de CE producen mayores proporciones de metano por unidad degradada que aquellas donde prevalecen los carbohidratos no estructurales. Misselbrook *et al.*, (2010) observaron *in vivo* que variedades de ryegrass con mayor contenido de carbohidratos solubles presentaron una menor producción de metano (24%)

6.8.3. Presión y volumen

Tabla 14. Ecuaciones de regresión entre presión (psi) (X) y volumen de gas (ml) (Y) en diferentes laboratorios.

Lugar	Altitud (Msnm)	Ecuación	R2	Relación Presión:Volumen
Reading	66	$Y = 0,18 + 3,69X + 0,08 X^2$	0,99	1 psi = 3,95 ml
Piracicaba	780	$Y = 0,56 + 3,61X + 0,18X^2$	0,98	1 psi = 4,35 ml
Belo Horizonte	836	$Y = -0,004 + 4,43X + 0,051 X^2$	0,99	1 psi = 4,48 ml
Medellin	1538	$Y = -0,1375 + 5,1385X + 0,0777 X^2$	0,99	1 psi = 5,56 ml

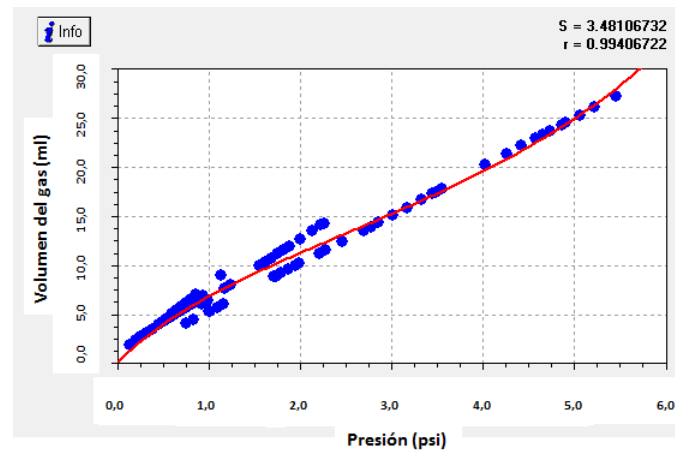
Tabla 15. Ecuaciones de regresión entre presión (psi) (X) y volumen de gas (ml) (Y) obtenidas para el laboratorio de Bromatología de la Universidad de Nariño.

Inóculo	Altitud (Msnm)	Ecuación	R2	Relación Presión:Volumen
Inóculo ruminal y fecal	2488	$Y = -0,06962 + 5,61658X + 0,00306 X^2$	0,97	1 psi = 5,56 ml
Inóculo ruminal	2488	$Y = -0,23707 + 5,78207X + 0,00573X^2$	0,96	1 psi = 5,61 ml
Inóculo fecal	2488	$Y = -0,02402 + 5,53182X + 0,00479 X^2$	0,97	1 psi = 5,51 ml

Y= Volumen del gas (ml); X= Presión del gas (psi=libras por pulgada cuadrada)
Fuente. (Narváez y Delgado, 2011)

Al relacionar los resultados obtenidos entre presión y volumen, con los obtenidos en centros de investigación ubicados en diferentes pisos altitudinales, se confirma lo enunciado por Posada y Noguera (2005) quienes afirman que el aumento de presión atmosférica no conserva una relación lineal con el volumen de gas estimado desde las ecuaciones obtenidas, evento también verificado por Narváez y Delgado (2011) y evidenciado nuevamente en la presente investigación.

Figura 3. Relación entre presión y volumen



6.8.4. Producción de Ácidos Grasos Volátiles (AGV'S).

La producción total de AGV's fue superior ($p < 0,05$) en las praderas del ST (465,6 ml/L) frente al SNT (255 ml/L), la mayor concentración del ST pudo ser el resultado de una alta tasa de fermentación de los contenidos de CE que conformaron a este sistema, dando como resultado mayores emisiones de metano. En este sentido, Álvarez (2000), afirma que la mayor producción de AGV's es proveniente de las fracciones de fibra de los alimentos, componentes que incrementan la producción de acetato en los forrajes. Tamminga *et al.*, (2007) confirman lo encontrado al mencionar que la fermentación de diferentes tipos de carbohidratos modifica el perfil de producción de AGV's y por tanto la producción de metano. Para Beauchemin *et al.*, (2008) el proceso es explicado debido a que los microorganismos del rumen metabolizan los carbohidratos de la dieta convirtiéndolos principalmente en ácidos grasos volátiles como acetato, propionato y butirato. En el proceso de síntesis de acetato y butirato se producen moléculas de hidrógeno las cuales deben ser removidas para mantener la eficiencia energética durante los procesos de fermentación anaerobia.

Tabla 16. Producción de AGV's de las praderas del sistema no tecnificado de una cuenca lechera del departamento de Nariño.

Composición de las praderas	Ácido Propiónico (ml/L)	Ácido Butírico (ml/L)	Ácido Acético (ml/L)
<i>Pennisetum clandestinum sin fertilizar</i>	190 c	0	120 a
<i>Pennisetum clandestinum fertilizado</i>	420 a	0	0 b
<i>Pennisetum clandestinum, Holcus lanatus, Traxacum officinale y Rumex crispus</i>	220 b	0	0 b
<i>Pennisetum clandestinum, Phalaris sp, Holcus lanatus y Rumex crispus</i>	70 d	0	0 b
Promedio	225	0	30

Valores que comparten letra vertical no difieren significativamente según prueba T.

En las tabla 17 y 18 se muestran que la concentración de butírico y acético de las praderas del SNT y ST fue baja en comparación con el propiónico. Posiblemente pudo ser el resultado de una baja población fibrolítica presente en las heces utilizadas o debido al manejo de la muestra al momento de incubación, aspecto que impidió obtener cantidades perceptibles de estos dos AGV's a nivel de laboratorio. Holter (1991) y Omed *et al.*, (2000) sugieren el uso de heces como proveedores de enzimas microbianas y preparados de enzimas puras; sin embargo, estas técnicas alternativas no están exentas de problemas, ya sea por variabilidad en la composición de las heces o en el tipo y actividad de las enzimas, como en las dificultades de su implementación y aceptación por parte de los nutricionistas y laboratoristas.

Tal como se aprecia en las figuras 1 y 2, la concentración de acético de las praderas del SNT y ST tuvo una correlación positiva con el contenido de MS (0,87), FDN (0,96), celulosa (0,88) y lignina (0,78), CE que para el presente estudio evidenciaron altos porcentajes de DMS y similares emisiones de CH₄ como resultado del proceso de fermentación. Johnson y Johnson (1995) y Moss *et al.*, (2000), señalan que el acetato y el butirato promueven la producción de metano, mientras que la formación de propionato puede ser considerada como una forma competitiva en el uso del H₂ en el rumen. De acuerdo con otros autores, los forrajes tiernos contienen mayores concentraciones de carbohidratos solubles, favoreciendo las rutas de degradación de los carbohidratos hacia propionato Murphy *et al.*, (1982), Purcell *et al.*, (2011).

Para Van Kessel y Russell (1996) cuando sustancias reducidas son transferidas de bacterias ruminales fermentadoras de carbohidratos a bacterias metanógenas, el acetato se incrementa y generalmente el propionato disminuye. El acetato es preponderante bajo dichas condiciones pero no se considera precursor significativo de metano en el rumen.

Tabla 17. Producción de AGV's de las praderas del sistema tecnificado de la cuenca lechera del departamento de Nariño.

Composición de las praderas	Ácido Propiónico (ml/L)	Ácido Butírico (ml/L)	Ácido Acético (ml/L)
Samson y Sterling	420 b	0 c	0 b
Samson, sterling, aubade y Trifolium pratense	380 c	1 b	0 b
Samson, aubade y Trifolium repens	40 d	0 c	120 a
Samson	860 a	1,5 a	0 b
Promedio	425	0,625	30

Valores que comparten letra vertical no difieren significativamente según prueba T.

6.9. Degradación *In vitro* de la materia seca (DMS) y la materia orgánica (DMO)

Como se observa en la tabla 18, y como se ha venido mencionando, la DMS de las pasturas del ST fue superior ($p < 0,05$) a las del SNT (48 Vs 46%); Presentándose diferencias ($p < 0,05$) entre las praderas que componen cada sistema.

Como se aprecia en las figura 1, la DMS de las praderas del SNT presentó una correlación positiva con el contenido de CH₄ (0,83), PC (0,81) y PV (0,79), relación que permite concluir que las emisiones de metano serían el resultado de altas tasas de degradación del material fibroso presente en las pasturas y elevados contenidos de PC y PV, especialmente cuando los valores de NNP son superiores. Para el caso de las praderas del ST, la DMS mostró correlación con el contenido de Hemicelulosa (0,72) y PC (0,76). Resultado que permiten afirmar que a mayor contenido de hemicelulosa y PC en la pastura, se obtiene un mayor valor en DMS y con ello una mayor producción de metano, como resultado del proceso fermentativo llevado a cabo.

Los valores más bajos en DMS los presentó la pradera en monocultivo de *P. clandestinum* sin fertilizar, posiblemente pueda atribuirse a la presencia de plantas maduras, las cuales incrementan la concentración de carbohidratos estructurales. Estos resultados son similares a los encontrados por Correa (2006), quien asocia la reducción en la digestibilidad total de la MS con el avance de la edad de corte (58 días de rebrote con 29.2% en DMS)

Como se puede observar en las tablas 18 y 19, la DMS de las praderas del SNT presentaron resultados similares al ST, donde las praderas que mostraron algún tipo de asocio gramínea/leguminosa/arvense mostraron valores más altos en DMS y las pasturas en monocultivo presentaron los valores más bajos, es decir, que el asocio gramínea/leguminosa/arvense estaría favoreciendo la DMS de la pastura.

Molina *et al.*, (2013) menciona que la DMS a las 24, 28, 74 y 96 horas de incubación reportó mayores tasas de degradación ($p < 0,05$) frente a las gramíneas solas. Rosales (1999) afirma que el tipo de dieta afecta el ambiente del rumen alterando algunos parámetros como pH, el cual influye en la degradación del contenido y de la pared celular de los forrajes.

Tabla 18. Degradación In vitro de la MS y MO de las praderas del sistema no tecnificado de una cuenca lechera del departamento de Nariño.

Composición de las praderas	DMS (%)	DMO (%)
<i>Pennisetum clandestinum</i> fertilizar	32 b	59 a
<i>Pennisetum clandestinum</i> fertilizado	52 ab	44 b
<i>Pennisetum clandestinum</i> , <i>Holcus lanatus</i> , <i>Traxacum officinale</i> y <i>Rumex crispus</i>	48 ab	55 c
<i>Pennisetum clandestinum</i> , <i>Phalaris sp</i> , <i>Holcus lanatus</i> y <i>Rumex crispus</i>	62 a	35 b
Promedio	46,0	48,2

abc, letras minúsculas en la misma a representan diferencias significancia entre medias ($p < 0,05$)

Tabla 19. Degradación In vitro de la MS y MO de las praderas del sistema tecnificado de la cuenca lechera del departamento de Nariño.

Composición de las praderas	DMS (%)	DMO (%)
<i>Samson, sterling</i>	56,4 a	43 b
<i>Samson, sterling, aubade, Trifolium pratense</i>	54 ab	43 b
<i>Aubade, samson, Trifolium repens</i>	50,7 b	60 a
<i>Samson</i>	45,5 c	42 b
<i>Promedio</i>	51,7	47

abc, letras minúsculas en la misma a representan diferencias significancia entre medias (p<0.05)

7 PLAN ALIMENTICIO DE VACAS EN PRODUCCIÓN PARA REDUCIR EMISIONES DE METANO

El presente estudio planteó la realización de una propuesta de un plan alimenticio para bovinos en producción que permita reducir las emisiones de metano. En este sentido, se identificaron algunos factores a nivel de planta y animal que condicionan las emisiones de metano, haciéndose necesario que el ganadero comprenda en forma integral la dinámica de estos componentes y con ello pueda potencializar la productividad del hato lechero con menores emisiones de metano.

En este sentido, se identificaron algunos factores que el ganadero puede tener en cuenta para que su sistema productivo sea eficiente, afectando en menor proporción al medioambiente.

Propiciar condiciones donde se preserve e incremente en diferentes maneras la fertilidad del suelo de acuerdo a las condiciones del mismo, reduciendo de esta manera la utilización excesiva de insumos externos, especialmente de agroquímicos, los cuales constituyen un elemento negativo sobre la economía y sostenibilidad de la finca.

Establecer praderas con amplia variedad florística (asocio de gramínea/leguminosa/arvense), las cuales en comparación con praderas en monocultivo, mostraron mayores contenidos nutricionales y producciones de biomasa.

Implementar un registro básico de seguimiento productivo de praderas, permitiendo de esta manera, ofrecer pasturas con un estado fenológico y nutricional equilibrado, incrementado así la oferta forrajera, respuesta animal y reducción de las emisiones de metano por unidad de área.

Ofrecer condiciones de bienestar y seguridad alimentaria animal, permitiendo de esta manera un incremento en el consumo de forraje y con ello una mayor productividad.

CONCLUSIONES

La producción de biomasa de las praderas del ST no fue significativa ($p < 0,005$) frente al SNT (6 Vs 5,7 kg/materia seca/corte), sin embargo, la diferencia radicó en la precocidad que ofrecen las pasturas del género *Lolium* (28 días) bajo programas de fertilización y riego, frente a las pasturas tradicionales de *P. clandestinum*, *H lanatus* y arvenses con manejo convencional (53 días).

En condiciones tradicionales de manejo, en el SNT la pradera en mezcla de *H. lanatus*, *P. clandestinum*, *T. officinale* y *R. crispus*, fue la que mostró el mayor potencial forrajero (48 días de PR y 6,2 t/materia seca/ha/corte), mientras que en las praderas del ST el mejor resultado lo presentó la asociación samson, sterling, aubade y *T. repens* (25 días de PR y 7,6 t/materia seca/ha/corte), en ambos casos, el asocio gramínea/arvense y/o gramínea/leguminosa/ evidenció mayor productividad y calidad nutricional frente a las praderas en monocultivo.

El manejo de pasturas con mayor variedad florística permitió incrementar la producción de forraje, calidad nutricional y degradabilidad de la MS y MO frente a una pradera en monocultivo.

La producción de metano fue mayor en las praderas del ST, aportando un 26,3% más que el SNT (240 VS 190 ml de CH₄ /kg/MS), valores que mostraron una correlación positiva entre la presencia de carbohidratos estructurales, la concentración de AGV's, volumen total del gas producido y las emisiones de metano.

BIBLIOGRAFÍA

ALVAREZ N, Diana M. Evaluación *In vitro* de leguminosas tropicales como fuente de proteína para rumiantes. Trabajo de grado para optar al título de Zootecnista. Palmira - Valle del Cauca. Universidad Nacional de Colombia, 2000. 120 p.

ANALAC. 2012. Balance de la leche en Colombia – Año 2011. Consultado en noviembre de 2012, disponible en:<https://www.finagro.com.co/html/cache/HTML/SIS/Ganaderia/2012/BALANCE%20LECHE.pdf>

AOAC. Official Methods of Analysis. 1995. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA. 16th ed., p. 2.201-3.301.

APRÁEZ, EDMUNDO. Análisis químico de los alimentos. Pasto, Colombia: Editorial Universitaria. Universidad de Nariño, 1994. p. 167.

APRÁEZ, E. CRESPO, G Y HERRERA, S. (2007) Efecto de la aplicación de abonos orgánicos y mineral en el comportamiento de una pradera de kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hoechs) en el Departamento de Nariño, Colombia. Revista Cubana de Ciencias Agrícolas. Tomo 41(1) (2007) Consultado en abril de 2015, disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193017666013>

APRÁEZ G.J., Gálvez C. A., Tapia CE., Jojoa L., León J., Zambrano J., Zambrano H.R., Obando V. Aux M.Y. 2012. Determinación de los factores edafoclimáticos que influyen en la producción y calidad del pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) en condiciones de no intervención, *LivestockResearchfor Rural Development*. 24 (3)

APRÁEZ, E. & MONCAYO, O. Caracterización agronómica y bromatológica de una pradera de kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hoechst) sometida a rehabilitación mediante labranza y fertilización orgánica y/o mineral. *LEAD*. 10:25-35, 2003.

AREGHEORE, E.M. Nutritive and antinutritive value of some tree legumes used in ruminant livestock nutrition in Pacific island countries. In: *Journal of South Pacific Agriculture*. Vol. 6, No. 2 (1999); p. 50-61.

ARENAS FA.NOGUERA, R, RESTREPO LF. Efecto de diferentes tipos de grasa en dietas para rumiantes sobre la cinética de degradación y fermentación de la materia seca *In vitro*. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.Vol.23 No. 1 Medellín. Jan./Mar.2010. Consultado en noviembre de 2012, disponible en:http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902010000100007&lang=pt

ARMERO, ADRIANA. Plan Estratégico para Impulsar la Actividad Ganadera Bovina en Pie en Nariño. San Juan de Pasto: UDENAR, Facultad de Ciencias Económicas y Administrativas. 2006. p. 115.

ASOCIACIÓN HOLSTEIN DE COLOMBIA - ASOHOLSTEIN. 2010. Consultado en abril de 2012, disponible en: www.asoholsteincolombia.com.co

ASOCIACIÓN HOLSTEIN DE COLOMBIA - ASOHOLSTEIN. Resumen Nacional de Desempeño Productivo y Reproductivo. Junio de 2011. Consultado en abril de 2012, disponible en: www.asoholstein.com.co/index.php?doc=raza

AWAFO, V.A., CHAHAL, D.S., SIMPSON, B.K. & LE, G.B.B. 1996. Production of cellulase systems by selected mutants of *Trichoderma reesei* in solid- state fermentation and their hydrolytic potentials. *Applied Bioch. and Biotech.(USA)*.V.57/58 461-470.

BARAHONA R.R Y SÁNCHEZ P. S. 2005. Limitaciones físicas y químicas de la digestibilidad de pastos tropicales y estrategias para aumentarla. Revista CORPOICA. 6 No. 1. Consultado en septiembre de 2014, disponible en:http://www.corpoica.org.co/sitioweb/Archivos/Revista/v6n1_p69_82_limitaciones_fisicoquimicas_digestpastos.pdf

BASTO G. y FIERRO L. Manejo sostenible de praderas. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA.; Servicio Nacional de Aprendizaje SENA, Ed. Produmedios. Junio. 1999. p. 12.

BEAUCHEMIN, K.A., KREUZER, M., O'MARA, F. AND MCALLISTER, T.A. 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Aust J Exp Agri*, 48: 21-27.

BELYEA, L. Y RICKETTS, R. Review. Forages for Cattle: New Methods of Determining Energy Content and Evaluating Heat Damage. Department of Animal Sciences. October 1993.

BERNAL J. Fertilización de pastos mejorados. En: Fertilización de cultivos de clima frío. Guerrero R, ed. 2a ed. EMA. p.278-370. 1998. Consultado en abril de 2015, disponible en: <http://www.monomeros.com/descargas/dpmanualfrio.pdf>.

BERNAL, B. Laila C. Efecto de las mezclas de leguminosas *Calliandracalothyrsus*, *Flemingiamacrophylla*, *Cratyliaargentea* y *Vignaunguiculata* Ensiladas y henificadas sobre los parámetros de fermentación ruminal *In vitro* y producción de leche en bovinos. Palimira – Valle del Cauca. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela de posgrados Tesis de grado presentada como requisito para optar al título de Magister en Ciencias Agrarias con énfasis en Producción Animal Tropical. 2007. 119 p.

BONDI., ARON. Nutrición Animal. Zaragoza, España: Acribia, 1989. p.7.

BUFF, W. Y VANDER, D. Giftflanzen in Natur. Alemania: Paul Paray, 1998. p. 149.

BUILES, A. & GÓMEZ, M. *Evaluación de la producción y calidad de kikuyo (Pennisetum clandestinum) asociado con árboles de aliso (Alnus acuminata) en bmh-MB*. Trabajo de grado. Medellín: Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, 2004.

CÁRDENAS, Edgar. Alternativas forrajeras para clima frío en Colombia. (Online) Santa fé de Bogotá, Colombia: 2002. (Consultado 13 marzo de 2014) Disponible en internet: <http://unperiodico.unal.edu.co/ediciones/66/13.htm>

CÁRDENAS, E.A. 2000. Sistemas de producción bovina en Colombia. En: Alzate, H. y Parra, L.G. Medicina Veterinaria y Zootecnia en Colombia. Trayectoria durante el siglo XX y perspectivas para el siglo XXI. EDIVEZ. Bogotá, Colombia. Pág. 563 – 576.

CÁRDENAS, Edgar. Alternativas forrajeras para clima frío en Colombia. [online] Santa fé de Bogotá, Colombia: 2002. [Consultado en noviembre de 2014] Disponible en internet: <http://unperiodico.unal.edu.co/ediciones/66/13.htm>

CARMONA, J. BOLÍVAR, M Y GIRALDO, L.A. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 2005; Vol 18, 1. Universidad de Antioquia. p. 49 – 63.

CALSAMIGLIA, S. Nuevas bases para la utilización de la fibra en dietas para rumiantes. In: XV curso de Especialización Avances en Nutrición y Alimentación Animal. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal –FEDNA–; 1997. Disponible en: http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/acidosis_nino.pdf Accesado en: 12/04/2015.

CARULLA, J. CÁRDENAS, E. SÁNCHEZ, N. Y RIVEROS, C. Valor nutricional de los forrajes más usados en los sistemas de producción lechera especializada de la zona andina colombiana. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. Consultado en abril de 2015, disponible en: http://www.academia.edu/8158740/Valor_nutricional_de_los_forrajes_en_colombia

CASTAÑEDA, M. DUQUE, M. GALVIS, R Y CORREA, H. (2008) Efecto de la fertilización nitrogenada y de la edad de corte sobre la digestibilidad intestinal in vitro de la proteína del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. Vol.61 no.2. Consultado en abril de 2015. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472008000200016

CASTELLANOS, R.A.; LLAMAS, L.G. Y SHIMADA, S.A. Manual de técnicas de investigación en rumiología. México : s.n., 1990.

CASTRO, Hever. Y SALAZAR, j. Evaluación agronómica y nutricional de una leguminosa promisoría para clima frío en Nariño. Pasto. 1998. p. 70. Trabajo de grado. Ingeniero agrónomo. Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas.

CASTRO, J Y AMADOR M. Emisión de Gases de Efecto Invernadero y Agricultura Orgánica. Enfoque metodológico: Emisión de gases de efecto invernadero, la fijación de carbono y la agricultura orgánica. San José – Costa Rica. 2006. Consultado en marzo de 2012, disponible en: <http://www.cedeco.or.cr> y cedeco_pigi@racsa.co.cr.

CASTRO R.E., MOJICA R.J.E., LEÓN J.M., PABÓN M.L., CARULLA F.J.E., y CÁRDENAS R.E.A. 2008. Productividad de pasturas y producción de leche bovina bajo pastoreo de gramínea y gramínea + *ILotusuliginosus* en Mosquera, Cundinamarca. Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Zootecnia. 55:9-21.

CHEEKE, P. R. 2000. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillajasaponariasaponins* in human and animal nutrition. *J. Anim. Sci.* 77:1–10.

CLARK, H., PINARES-PATIÑO, C. AND DE KLEIN, C. 2005. Methane and nitrous oxide emissions from grazed grasslands. In: McGilloway, D.A. *Grassland: A global resource*. Academic Publishers. Wageningen, The Netherlands. pp. 279-293.

COLORADO, M., QUINTERO, M Y GALVIS, D. Efecto de la fertilización nitrogenada y de la edad de corte sobre la digestibilidad intestinal in vitro de la proteína del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Vol 61, (2). Medellín 2008. Consultado en abril de 2015, disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472008000200016

CONE, J. W., GELDER, A. H., VAN VISSCHER, G. J. W. 1996. Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measure with a fully automated time released gas production apparatus. *Animal Feed Science and Technology* 61: 113-128

Consolidado Agropecuario para el departamento de Nariño 2012. Consultado en mayo de 2015, disponible en: <http://es.slideshare.net/MemoJurado/consolidado-agropecuario-2012>.

CORPOICA. 2009. Seminario-Taller Internacional sobre Cambio Climático y los Sistemas Ganaderos en Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Universidad de EMPRAPA en Brasil.

CUESTA, PABLO A. BÁEZ, FERNANDO. LEÓN MARÍA, MILA, ALBERTO. OJEDA, HERNÁN Y RUIZ, HUGO. Problemática y estrategia para la renovación de praderas degradadas en sistemas de producción de leche del Trópico Alto de Nariño. En: *Renovación y manejo de praderas y utilización de ensilajes en el trópico alto*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA. 2003. p.5.

CZERKAWSKI, J. W. (1969). Methane production in ruminants and its significance. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 11, 240.

DELGADO A, RUIZ S, ARÉVALO L, CASTILLO G, VILES N., CALDERÓN J, CAÑIZARES J, MUÑOZ Y RAMOS R. (Eds). 2007. Plan de Acción en Biodiversidad del

Departamento de Nariño 2006 – 2030 – Propuesta Técnica. Corporación Autónoma Regional de Nariño – Corponariño, Gobernación de Nariño – Secretaria de Agricultura, Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt – IAvH, Universidad de Nariño, Unidad Administrativa Especial del Sistema de Parques Nacionales Naturales – UAESPNN, Universidad Mariana, Asociación, Asociación para el Desarrollo Comunitario – ADC, Asociación de Consejos Comunitarios y Organizaciones Étnico Territoriales de las zonas Centro y Norte de la Costa Pacífica de Nariño – ASOCOETNAR y Red de Consejos Comunitarios del Pacífico Sur – RECOMPAS Pasto. 512 p.

DAVIES D. R., THEODOROU M.K., BAUGHAN J., BROOKS A. E. AND NEWBOLD J.R. 1995. An automated pressure evaluation system (APES) for determining the fermentation characteristics of ruminant feeds. *Annales de Zootechnie* 44(Suppl 1), 36.

DAVINSON, E.A global inventory of nitric oxide emissions from soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 1997. V. 48, (1 - 2): p. 37 – 50.

DAVISON KL AND WOODS W. 1963 Effect of calcium and magnesium upon digestibility of a ration containing corn oil by lambs. *J Animal Sci* 1963; 22:27-29.

DE KLEIN, C.A.M., ECKARD, R.J., 2008. Targeted technologies for nitrous oxide abatement from animal agriculture. *Aust. J. Exp. Agric.* 48, 14–20.doi:10.1071/ EA07217

DERAMUS HA, CLEMENT TC, GIAMPOLA DD, DICKISON PC. Methane emissions of beef cattle on forages: efficiency of grazing management systems. *Journal EnvironQual*, 2003; 32: 269-277

DE REZENDE, F.R., DE SOUZA, C., DA CUNHA, K. & DE CASTRO, A.L. 2002. Effects of levels and adaptation periods to sodium lasalocid on the rumen fermentation parameters. *R. Bras. Zootec.* 31:6

DEVENDRA C AND LEWIS D.The interaction between dietary lipids and fibre in the sheep. *Animal Prod* 1974;19:67-79.

DUXBURY J.M. The Significance of Greenhouse Gas Emissions from Soils of Tropical Agroecosystems. In: *Advances in Soil Science: Soil Management and Greenhouse Effect*. Ed. R. Lal, 1995; p. 279 – 291.

EGUREN, LORENZO. El mercado de Carbono en America Latina y el Caribe: Balance y perspectivas. Santiago de Chile: CEPAL. 2004. 83 p. (Serie Ambiente y Desarrollo).

ESPINAL, F. MARTÍNEZ, H. Y GONZÁLEZ, F. La cadena de lácteos en Colombia una mirada global de su estructura y dinámica. Documento de trabajo N° 98. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. 2005. 39 p.

ESTRADA, J.A., GAVIRIA, J.M. & GARCÍA, F.G. 1993. Hongos anaeróbicos del rumen. Archivo Latinoamericano Producción Animal. 1:111

FAITHFULL NT. 2002. Methods in Agricultural Chemical Analysis: A Practical Handbook. Institute of Rural Studies, University of Wales, Aberystwyth, UK.304 p.

FAO. 2010. Greenhouse Gas Emissions from the Dairy Sector: A Life Cycle Assessment. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy.

FAO.<http://www.fao.org/docrep/012/i0680s/i0680s00.pdf>

FEDERACIÓN COLOMBIANA DE GANADEROS – FEDEGAN. Plan Estratégico de la Ganadería Colombiana PEGA 2019. Por una ganadería moderna y solidaria. Santa fe de Bogotá, Colombia. Noviembre de 2006. p. 296.

FEDERACIÓN COLOMBIANA DE GANADEROS – FEDEGAN. Producción láctea para Colombia. 2015. Consultado en mayo de 2015, disponible en: <http://www.fedegan.org.co/estadisticas/produccion-0>

GALINDO, J. Y MARRERO, Y. Manipulación de la fermentación microbiana ruminal. Rev. Cubana Cienc. Agric. Vol. 39, 2005.pp. 439 – 450. Consultado en noviembre de 2012, disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=193017842006>

GALINDO, J., MARRERO, Y., GONZÁLEZ, N. & ALDANA, A.I. 2004. Caracterización de la actividad celulolítica en el líquido de rumen filtrado. Rev. Cubana Cienc. Agric. 38:259.

GARCÍA, A., N. THIEX., K. KALSCHEUR Y K. TJARDES. Interpretación del análisis del ensilaje de maíz. Dakota, Estados Unidos: USDA, 2005. p. 1-3.

GOERING, H.K. & VAN SOEST, P.J. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures, and some applications). United States Department of Agriculture. Agriculture Handbook.No. 379.Agricultural Research Service.Washington, D.C.

GONZALES. A. Plantas tóxicas para el ganado. México: Limusa, 1989. p. 273.

HANIGAN, M. D. Quantitative aspects of ruminant splanchnic metabolism as related to predicting animal performance. *Anim. Sci.* 80:23-32 2005, http://www.bsas.org.uk/Publications/Animal_Science/2005/Volume_80_Part_1/23/A_S.pdf. [12/01/2014].

HEGARTY, R. S., J. P. GOOPY, R. M. HERD, AND B. MCCORKELL. 2007. Cattle selected for lower residual feed intake have reduced daily methane production. *J. Anim. Sci.* 85:1479–1486.

HERNÁNDEZ, L.A. 1992. Renovación de praderas improductivas. En: Pastos y Forrajes para Colombia. Suplemento Ganadero. 3 Ed.p.59-63.

HESS, H.D., MERA, M.L., TIEMANN, T.T., LASCANO, C.E. AND KREUZER, M. 2008. In vitro assessment of the suitability of replacing the low-tannin legume *Vigna unguiculata* with the tanniniferous legumes *Leucaena leucocephala*, *Flemingia macrophylla* or *Calliandra calothyrsus* in a tropical grass diet. *Anim Feed Sci Technol*, 147:105-115.

HOLDRIDGE L., R. Sistema de clasificación de las Zonas de Vida Natural del Mundo. En: Recopilación de documentos. 1998. p. 145.

HOLLMANN, M., POWERS, W., FOGIEL, A., LIESMAN, J., BELLO, N., AND BEEDE, D. 2012. Enteric methane emissions and lactational performance of Holstein cows fed different concentrations of coconut oil. *Journal of Dairy Science*. Consultado en Septiembre 19 de 2012, disponible en: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4896>

HOULIHAN, A.J. & RUSSELL, J.B. 2003. The susceptibility of ionophore-resistant *Clostridium aminophilum* F to other antibiotics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 52:623.

HOLDRIDGE, L. Ecología basada en zonas de vida. IICA, Costa Rica 1982. p. 216.

HOLTER, P. (1991). Concentration of Oxygen, Carbon Dioxide and Methane in the Air Within Dung Pats. *Pedobiologia*, 35, 381-386.

HOLTSHAUSEN L, A. V. CHAVES, K. A. BEAUCHEMIN, S. M. MCGINN, T. A.

MCALLISTER, P. R. CHEEKE AND C. BENCHAAAR. Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and *Quillajasaponariato* decrease enteric methane production in dairy cows. 2009. J. Dairy Sci. 92 :2809–2821

Instituto Agropecuario Colombiano Agropecuario (ICA). Programa de pastos y forrajes, 1994. 3 p.

INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. San Juan de Pasto. [en línea] [Citado 15 de febrero de 2012]. Consultado en marzo de 2012, disponible en: <http://intranet.ideam.gov.co/Vinfmeteo/Mventaig.asp>

JAKHMOLA, R.C., PAHUJA, T. AND RAGHUVANSI, S.K.S. 2010. Feeding strategies to reduce enteric methane production in ruminants: a review. Indian J Small Rumin, 16: 1-17

JAYANEGARA, A., TOGTOKHBAYAR, N., MAKKAR, HPS. AND BECKER, K. 2009. Tannins determined by various methods as predictors of methane production reduction potential of plants by an in vitro rumen fermentation. Anim Feed Sci Technol, 150: 230-237.

JANSSEN, P. H. (2010). Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Animal Feed Science and Technology*, 160(1), 1-22.

JOHNSON KA AND JOHNSON DE. Methane emissions from cattle. Journal of Animal Science, 1995. 73. 2483-2492.

JOHNSON, K. A., R. L. KINCAID, H. H. WESTBERG, C. T. GASKINS, B. K. LAMB, AND J. D. CRONRATH. 2002. The effect of oilseeds in diets of lactating cows on milk production and methane emissions. Journal of Dairy Science. 85:1509–1515.

JOHNSON R, MCCLURE K. High Fat Rations for Ruminants II. Effects of Fat Added to Corn Plant Material Prior to Ensiling on Digestibility and Voluntary Intake of the Silage. J Animal Sci 1973; 36:397-406.

KERTZ, A. F., L. F. REUTZEL, AND G. M. THOMSON. 1991. Dry matter intake from parturition to midlactation. Journal of Dairy Science. 74:2290 – 2295.

KURIHARA M, MAGNER T, MCCRABB H, MCCRABB G. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. British Journal of Nutrition, 1999; 81: 227-234.

LAPIERRE, H.; BERTHIAUME, R.; RAGGIO, G.; THIVIERGE, M. C.; DOEPEL, L.; PACHECO, D. 2005. The route of absorbed nitrogen into milk protein. *Anim. Sci.* 80:11-22.

http://www.bsas.org.uk/Publications/Animal_Science/%3Fprint%3D1/Volume_80_Part_1/11/AS.pdf. [13/11/2013].

LASCANO, CARLOS Y SPAIN, JAMES. Establecimiento y Renovación de Pasturas. 1988. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT.p.104-105.

LASCANO C.E, MILES J.W, AVILA P, RAMIREZ, G. Milk yield with new Brachiaria híbridos. Informe Annual 2003. Proyecto Forrajes Tropicales. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). p. 3 – 4.

LEATHERWOOD, J.M. 1965. Cellulasa from *Ruminococcus albus* and mixed rumen microorganisms. *Appl. Microbiol.* 13:771

LENG, R.A. 2008. The potential of feeding nitrate to reduce enteric methane production in ruminants. A report to the department of climate change. Commonwealth Government of Australia, Canberra (disponible en <http://www.penambulbooks.com>)

LI, A.D. & FORSBERG, C.W. 1987. Isolation of cellodextrinase from *Bacteroides succinogenes*. *Appl. and Environ. Microbiol.* 53:1034.

LOVETT, D.K., BORTOLOZZO, A., CONAGHAN, P., O'KIELY, P.O. Y O'MARA, F.P. 2004. In vitro total and methane gas production as influenced by rate of nitrogen application, season of harvest and perennial rye grass cultivar. *Grass Forage Sci.* 59: 227–232.

MACHMULLER, A. 2006. Medium-chain fatty acids and their potential to reduce methanogenesis in domestic ruminants. *Agric. Ecosyst. Environ.* 112:107–114.

MAKKAR, H.P.S Y MCSWNEEY, C.S., *Methods in Gut Microbiology Ecology for ruminants*, Springer, 2005, p. 23 – 67.

MARTÍNEZ, S. J.; PEDRAZA, R.; GONZÁLEZ, E.; LÓPEZ, M. y GUEVARA, G. (2005). Influence of The Donor Animal on the In vitro Gas Production with the Use of

VoidedBovineFaeces. LivestockResearchfor Rural Development, 17. Consultado en febrero de 2015. Disponible en internet: <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd17/11/mart17129.htm>.

MAZZA, P.H., DE SOUSA,C. & DE CASTRO, A.L. 2000.Effects of sodium lasalocid and roughage/concentrate ratio on ruminal fermentation in dry cows. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 37:3

MCBEE RH.Manometric method for the evaluation of microbial activity in the rumen with application to utilization of cellulose and hemicelluloses. Appl. Microbiol. 1953; 1:106-110.

MAURICIO R M, OWEN E, MOULD F L, GIVENS D I, THEODOROU M K, FRANCE J, DAVIES D R AND DHANOA M S.2001 Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an *in vitro* gas production technique for evaluating forages. Animal Feed Science and Technology 89:33–48

MAURICIO, M. R., Mould,F.L., Dhanoa, M.S., Owen, E., Channa, K.S., and Theodorou M.K., 1999. A Semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. Animal feed Science and Technology 79:321-330

McCAUGHEY W, Wittenberg K, Corrigan D. Methane production by steers on pasture. Can J AnScien, 1997; 76 N°3:591-524.

----- Impact of the pasture type of methane production by lacting beef cows. Can J AnScien, 1999; 79 N°2:221-226.

McDONALD IM. A revised model for the estimation of protein degradability in rumen.J AgrSci 1981; 96:251-252.

MEDRANO, JORGE. Subproductos agrícolas y su utilización en sistemas integrados de producción. En: Memorias del curso; Alternativas no tradicionales para la alimentación de rumiantes. Pasto, Colombia: ICA, 1992. p. 87.

MEJÍA, ANA, OCHOA, R. Y MEDINA, MARISOL (2014). Efecto de diferentes dosis de fertilizante compuesto en la calidad de pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum Hochst*), Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. Vol 37 no.1 Matanzas. Consultado en abril de 2015, disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-03942014000100004&script=sci_arttext

MENDOZA, G.D.; PLATA, F.X.; ESPINOSA, R.; LARA, A., 2008. - Manejo nutricional para mejorar la eficiencia de utilización de la energía en bovinos. *Universidad y Ciencia* 24(1): 75-87.

MENKE K H, RAAB L, SALESWSKI A, STEINGASS H, FRITZ D, SCHNEIDER W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding-stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *In vitro*. *J. Agric. Sci.* 1979; 93:217-222.

MENKE, K. H., AND STEINGASS H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal ResearchDevelopment*. 1988 28: 7-55.

MERA M.I. Efecto de leguminosas forrajeras tropicales ricas en taninos sobre la fermentación ruminal y la producción de metano en un sistema *In vitro* (RUSITEC). Trabajo de grado presentado para optar al título de Zootecnista. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT. 2004 Laboratorio de Forrajes. 78 p.

MERA R y RUALES H. 2007. Evaluación de la adaptación del trébol pata de pájaro (*Lotus corniculatus*) asociado con kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) bajo dos sistemas de reproducción y diferentes densidades de siembra en el municipio Pasto – Nariño. Tesis de grado para optar al título de Zootecnista, Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad de Nariño. Pasto. p37.

MISSELBROOK, T., KIM, E.J., BULMER, N., MUNRRAY, R., SCOLLAN, N. AND CHADWICK, D. 2010. Evaluation of effects of grass water-soluble carbohydrate on methane emissions from grazing lambs. In: McGeough, EJ. and McGinn, S.M. (Eds.). *Proceeding of the 4th Greenhouse Gases and Animal Agriculture Conference*. Greenhouse Gases and Animal Agriculture Conference. Banff, Canadá.

MITSUMORI, M., & Sun, W. (2008). Control of rumen microbial fermentation for mitigating methane emissions from the rumen. *AsianAustralasianJournal of Animal Sciences*, 21(1), 144.

MOE, P.W. AND TYRRELL, H.F. 1979. Methane production in dairy cows. *J Dairy Sci*, 62: 1583-1586. 2013. Producción de metano *in vitro* de dos gramíneas tropicales solas y mezcladas con *Leucaena leucocephala* o *Gliricidia sepium*. *Ces. Med. Vet. Zootec*. vol.8 no.2 Medellín. Consultado en marzo de 2015. Disponible en internet: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1900-96072013000200002

MOLINA, I. CANTET, J. MONTOYA, S. CORREA, G Y BARAHONA, R.
MONSALVE L.M. 2003. Suplementación de una gramínea tropical con leguminosas y *Sapindus saponaria* sobre la fermentación ruminal y la metalogénesis *In vitro*. Trabajo de grado presentado para optar al título de Zootecnista. Universidad de Santa Rosa de Cabal. Pereira. 86 p.

MONTENEGRO J Y ABARCA S. Capítulo 10. Fijación de carbono, emisión de metano y óxido nitroso en sistemas de bovina en Costa Rica En: Intensificación de la ganadería en Centroamérica: Beneficios Económicos y Ambientales. Deposito de documentos de la CATIE-FAO-SIDE. 2002. Consultado en febrero de 2013, disponible en: <http://www.fao.org/WAIRDOCS/LEAD/x6366s/x6366s10.htm>

MORENO, B. Algunos métodos y técnicas espectroscópicas aplicables en el análisis químico y estructural de taninos vegetales. En: TANINOS EN LA NUTRICIÓN DE RUMIANTES EN COLOMBIA. Memorias de taller sobre taninos. CIAT-ETH.s.l. : Hess HD y Gómez J.,2004. p. 20-24.

MOSS A.R, J.P, Jouany, and J. Newbold. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. INRA EDP Sciences. Ann Zootech. 2000; 49: p 231-253.

MOULD FL, KLEIM KE, MORGAN R, MAURICIO RM. *In vitro* microbial inoculum: A review of its function and properties. Animal FeedScience and Tecnology. 2005; p. 1-20.

MURPHY, M.R., BALDWIN, R.L. AND KOONG, L.J. 1982. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. J Animal Sci,55: 411-421.

NARVÁEZ J Y DELGADO J. 2011. Caracterización de recursos forrajeros herbáceos, arbóreos y arbustivos de uso convencional y alternativo en el trópico alto del departamento de Nariño, mediante el uso de la Técnica *In vitro* de producción de gases. Tesis de grado para optar al título de Zootecnista. Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias. Programa de Zootecnia.

NARVÁEZ, E.J. Y TABLA J.A. Determinación de los factores edafoclimáticos que inciden en la producción y calidad nutritiva del pasto brasilero (*Phalaris sp*) en condiciones de no intervención, en el municipio de Pasto, departamento de Nariño. Tesis de grado para optar al título de zootecnista. Facultad de Ciencias Pecuarias – Universidad de Nariño. 2009.

NARVÁEZ, N. Caracterización nutritiva de especies arbóreas con potencial forrajero en Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela de posgrados. Tesis de grado presentada como requisito para optar al título de Magister en Ciencias Agrarias con énfasis en Producción Animal Tropical. Universidad Nacional de Colombia. 2000. 150 p.

NEOFRONTAS, 2005. Noticias de Ciencia y Tecnología. Vacas contaminantes. Consultado en marzo de 2012, disponible en: http://www.familia.cl/animales/vacas_contaminacion/vacas/htm

NOGUERA RR. Estudio químico, “*in situ*”, “*In vitro*” e microscópico da parede celular de cinco génotipos de sorgo colhidos em três épocas de corte. *Ph. D. Thesis*. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 2002. 148p.

OCHOA, S. CERÓN, J. (2013). Evaluación del establecimiento de ryegrass (*Lolium sp.*) en potreros de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) usando la metodología de cero labranza, Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. Vol 8, (1). Medellín 2013. Consultado en abril de 2015, disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1900-96072013000100003&script=sci_arttext

O'MARA, F.P. 2011. The significance of livestock as a contributor to global greenhouse gas emissions today and in the near future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166–167: 7–15.

OMED, H. M.; LOVETT, D. K. y AXFORD, R. F. E. (2000). Faeces as a Source of Microbial Enzymes for Estimating Digestibility. En D. I. Givens, E. Owen, R. F. E. Axford y H. M. Omed (Ed.). *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. Wallingford, U.K: CABI Publishing.

ORSKOV E., R. *et al.*, Uso de la técnica de la bolsa de nylon para la evaluación de alimentos. En: *Producción Animal Tropical*. Vol. 12 – 1980. p. 213-223.

PALMQUIST DL. Utilización de lípidos en dietas para rumiantes. Department of Animal Sciences. OARDC/OSU, Wooster, OH. En: XII CURSO DE ESPECIALIZACION FEDNA. Madrid, España. 1996.

PELL AN AND SCHOFIELD P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. *Journal of Dairy Science*. 1993; 76: 1063-1073 [[Links](#)]STANDARDIZEDENDPARAG]

PETERS M., Franco I., Schmidt A, e Hincapié B. 2003.Especies Forrajeras Multipropósito: Opciones para productores de Centroamérica. Publicación CIAT No. 333. Cali, Colombia. 113p.

PIRELA M. Valor nutritivo de los pastos tropicales. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. 2005. Consultado en agosto de 2012, disponible en: http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganadería/sección_3/articulo6-s3.pdf.

Plan de Desarrollo Departamental “Nariño Mejor” 2012 – 105. P.79. Consultado en agosto 15 de 2015, disponible en: http://www.nariño.gov.co/index.php?option=com_repositor&Itemid=232&func=startdown&=7661

POSADA SL. Valoración de las heces y el contenido ruminal como inóculos en la técnica *In vitro* de producción de gases. Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Producción Agropecuaria. Tesis de grado para optar al título de Magister en Ciencias Animales. 2006. 78 p.

POSADA, Sandra Lucia, NOGUERA, Ricardo. 2005. Técnica *In vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. [en línea], En: LivestockResearchfor Rural Development. 17(36). Consultado en febrero de 2013, disponible en: URL:<http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd17/4/posa17036.htm>[[[Links](#)]STANDARDIZEDEN DPARAG]

POSADA, SL. NOGUERA, R Y BOLIVAR D. Relación entre presión y volumen para la implementación de la técnica *In vitro* de producción de gases en Medellín, Colombia. Revista Colombiana de Ciencias pecuarias. Vol.19 no.4. Medellin.2006. Consultado en septiembre de 2013, disponible en:http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902006000400006&lang=pt

Purcell, P.J., O’Brien, M., Boland, T.M., O’Donovan, M. and O’Kiely, P. 2011. Impacts of herbage mass and sward allowance of perennial ryegrass sampled throughout the growing season on in vitro rumen methane production. Anim Feed Sci Technol,166-167: 405-411.

REED, J.D. Condensed tannins: a factor limiting the use of cassava forage. In : Journal Science Food Agriculture. Vol. 33, No. 3 (1982); p. 213-220.

REED, J.D. Nutritional toxicology of tannins and related poliphenols in forage legumes. In : Journal Animal Science. Vol. 73 (1995); p. 1516-1528.

ROSALES, M. *et al.*, Uso de árboles forrajeros para el control de protozoarios ruminales. In : Livestock Research for Rural Development. Vol. 1, No. 1 (1989); p. 79-85.

ROSALES M. Efectos asociativos in vitro de mezclas de forrajes arbóreos para rumiantes. <http://www.cipav.org.co/redagrofor/memorias99/memorias> HTM. p. 1-10. 1999

SÁNCHEZ J.M. 2000. Hipomagnesemia. Un Desbalance Metabólico Subestimado en Nuestros Hatos de Ganado Lechero. Aceptado para su publicación en la Revista Nutrición Animal Tropical.

SIS. 2007. Sistema de Información Sectorial. En línea. Consultado en febrero de 2012, disponible en: <http://mvz.unipaz.edu.co/textos/manuales/ganaderia.pdf>

SIERRA, J. O. Monitoreo o aforo del rendimiento de forraje para el cálculo de la carga animal en sistemas de pastoreo racional y el ajuste de carga en pesajes intermedios. 2006. p. 1-3.

SCHOFIELD P. Gas Production Methods. In: Farm Animal Metabolism and Nutrition. Wallingford (UK). CAB International. 2000. 450 p.G

SMITH, P., D. MARTINO, Z. CAI, D. GWARY, H. JANZEN, P. KUMAR, B. MCCARL, S. OGLE, F. O'MARA, C. RICE, B. SCHOLE, O. SIROTKENKO, M. HOWDEN, T. MCALLISTER, G. PAN, V. ROMANENKOV, U. SCHNEIDER, S. TOWPRAYOON, M. WATTENBACH, AND J. SMITH. 2008. Greenhouse gas mitigation in agriculture. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 363:789–813.

SOUZA, J. S. I., Peixoto, A. M., & de Toledo, F. F. (1995). *Enciclopédia agrícola brasileira* (Vol. 1). Edusp.

STEWART, C.S. 1991. The rumen bacteria. In: Journal, J.P. Rumen microbial metabolism and ruminant digestion. INRA editions. Paris. Pag 15-26.

SUN, X.Z., WAGHORN, G.C. AND CLARK, H. 2010. Cultivar and age of regrowth effects on physical, chemical and in sacco degradation kinetics of vegetative perennial ryegrass (*Lolium perenne* L). *Anim Feed Sci Technol*,155: 172-185.

TAMMINGA, S., Bannink, A., Dijkstra, J. and Zom, R. (2007). Feeding strategies to reduce methane loss in cattle. Report 34. *Animal Sciences Group*, Wageningen UR, Lelystad, the Netherlands.

TEUBER, N: 1996. La pradera en el llano longitudinal de la X Región (Valdivia – Chiloé), In: Praderas para Chile. Ignacio Ruíz, ed. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. INIA. Ministerio de Agricultura. Santiago, Chile. pp. 536-544.

THEODOROU MK, WILLIAMS BA, DHANOA MS, MCALLAN AB, FRANCE J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 1994; 48:185-197.

TIEMANN, T.T., LASCANO, C.E., WETTSTEIN, H.R., MAYER, A.C., KREUZER, M. AND HESS, H.D. 2008b. Effect of the tropical tannin-rich shrub legumes *Calliandra calothyrsus* and *Flemingia macrophylla* on methane emission and nitrogen and energy balance in growing labs. *Animal*,2:790-799.

U

RBANO, Diannelis; ARRIOJAS, Ismael y DÁVILA, Ciro. Efecto de la fertilización en la asociación Kikuyo- Alfalfa (*Pennisetum clandestinum* – *Medicago sativa*) Consultado en enero de 2015 y disponible en internet: http://www.sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/ZootecniaTropical/zt1302/texto/fertilizacion.htm

VALIÑO, E. 1999. Fermentación en estado sólido del bagazo de caña por especies de hongos conidiales productores de celulasas. Tesis Ph. D. Instituto de Ciencia Animal La Habana - Cuba.

VAN HORN, H. H.; WILKIE, A. C.; POWERS, W. J. & NORDSTEDT, R. A. Components of dairy manure management systems. *J. Dairy Sci.* 77:2008-2030. <http://jds.fass.org/cgi/reprint/77/7/200>. [10/1/2013], 1994.

VAN SOEST, PETER. Nutritional ecology of the ruminant. 2 ed. New York: Cornell University Press. 1994. 476 p.

VAN THU, N. (2003). Effect of Different Strategies of Treated Rice Straw on Nutrients and In vitro OM Digestibility by Using Rumen Fluid or Faecal Inocula of Local Cattle. En Reg Preston y Brian Ogle (Eds.) Proceedings of Final National Seminar Workshop on Sustainable Livestock Production on Local Feed Resources. Hue City: HUAF-SAREC. Extraído en febrero de 2015. Disponible en internet: <http://www.mekarn.org/sarec03/thu2.htm>.

VÁSQUEZ, M. Y MOSQUERA, J. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre la dinámica de crecimiento en la fase de establecimiento del ryegrass (*Lolium perenne* CV SAMSON). Trabajo de grado. Universidad de la Salle. Facultad de ciencias agrónomicas. 2013.

VARGAS, J. CÁRDENAS, M Y CARULLA J. 2012. Revisión bibliográfica. Emisión de metano entérico en rumiantes en pastoreo. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Colombia. Arch. Zootec. 61 (R): 51-66.

WAGHORN, G.C.; TAVENDALE, M.H.; WOODFIELD, D.R. 2002. Methanogenesis from forages fed to sheep. Proceedings of the New Zealand Grassland Association 64: 167-171.

WALLACE, R. J., T. A. WOOD, A. ROWE, J. PRICE, D. R. YANEZ, S. P. WILLIAMS, AND C. J. NEWBOLD. 2006. Encapsulated fumaric acid as a means of decreasing ruminal methane emissions. Int. Congr. Ser. 1293:148–151.

WATSON R.T., ZINYOWERE M.C., MOSS R.H. Climate change 1995; impacts, adaptations and mitigation of climatic change: scientific–technical analysis. (1996)(eds.). Cambridge University Press, Cambridge.

WATSON, R. T., Zinyowera, M. C., & Moss, R. H. (1996). Tecnologías, políticas y medidas para mitigar el cambio climático: Documento técnico I del IPCC.

WEIMER P.J. 1998. Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective. Journal of Animal Science. 1998. 76:3114-3122.

WEIS, W.P. & D.J. WYATT. 2004. Macromineral digestion by lactating dairy cows: estimating phosphorus excretion via manure. J. Dairy Sci. 87:2158-2166.

WILLIAMS, A. G., E. AUDSLEY, AND D. L. SANDARS. 2008. Environmental

burdens of livestock production systems derived from life cycle assessment (lca). Pages 171–200 in *Recent Advances in Animal Nutrition*. P. C. Garnsworthy and J. Wiseman, ed. Nottingham University Press, Nottingham, UK.

XUE, G.P., ORPIN, C.G., GOBIUS, K.S., AYLWORD, J.H. & SIMPSON, G.D. 1992. Cloning and expression of multiple cellulose cDNAs from the anaerobic rumen fungus *Neocallimastix patriciarum* in *Escherichia coli*. *J. Gen. Microbiol.* 138:1413.

YAPEZ T. J.C. Y F.L. TAMAYO. Establecimiento y manejo racional de praderas en el noreste antioqueño. Primero y segundo curso teórico - prácticos sobre sistemas ganaderos sostenibles en el Nordeste Antioqueño. Corpoica, Colombia: s.n., 2003. p. 25-65.

ZAMBRANO, G.L. 2013. Evaluación de la relación suelo-planta-animal a través de la producción y calidad composicional de la leche en Catambuco Nariño. Tesis de grado para optar al Título de Master en Ciencias Agrárias con énfasis en producción de cultivos. Facultad de Ciencias Pecuarias. Universidad de Nariño. Consultado en enero de 2015. Disponible en <http://biblioteca.udenar.edu.co:8085/bibliotecavirtual/viewer.aspx?&var=89707>

ANEXOS

The SAS System 09:59 Saturday, August 16, 2014

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CH₄ mL

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	14
Error Mean Square	151.111
Critical Value of Studentized Range	4.99029
Minimum Significant Difference	35.417

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	312.13	3	8
A			
B A	298.30	3	4
B			
B C	274.73	3	5
C			
C	261.27	3	6
D	223.50	3	3
D			
D	195.13	3	2
E	113.43	3	7
F	44.83	3	1

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for tMSha

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 12
 Error Mean Square 0.080231
 Critical Value of StudentizedRange 5.11590

Comparisons significant at the 0.05 level are indicated by ***

		Difference			
TTO	Comparison	Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits		
6	- 7	2.8667	1.9313	3.8020	***
6	- 5	2.9000	1.9646	3.8354	***
6	- 4	3.2000	2.2646	4.1354	***
6	- 3	3.4000	2.3753	4.4247	***
6	- 8	3.8667	2.9313	4.8020	***
6	- 1	4.1000	3.1646	5.0354	***
6	- 2	4.4667	3.5313	5.4020	***
7	- 6	-2.8667	-3.8020	-1.9313	***
7	- 5	0.0333	-0.8033	0.8700	
7	- 4	0.3333	-0.5033	1.1700	
7	- 3	0.5333	-0.4020	1.4687	
7	- 8	1.0000	0.1634	1.8366	***
7	- 1	1.2333	0.3967	2.0700	***
7	- 2	1.6000	0.7634	2.4366	***
5	- 6	-2.9000	-3.8354	-1.9646	***
5	- 7	-0.0333	-0.8700	0.8033	
5	- 4	0.3000	-0.5366	1.1366	
5	- 3	0.5000	-0.4354	1.4354	
5	- 8	0.9667	0.1300	1.8033	***
5	- 1	1.2000	0.3634	2.0366	***
5	- 2	1.5667	0.7300	2.4033	***
4	- 6	-3.2000	-4.1354	-2.2646	***
4	- 7	-0.3333	-1.1700	0.5033	

4	- 5	-0.3000	-1.1366	0.5366			
4	- 3	0.2000	-0.7354	1.1354			
4	- 8	0.6667	-0.1700	1.5033			
4	- 1	0.9000	0.0634	1.7366	***		
4	- 2	1.2667	0.4300	2.1033	***		
3	- 6	-3.4000	-4.4247	-2.3753	***		
3	- 7	-0.5333	-1.4687	0.4020			
3	- 5	-0.5000	-1.4354	0.4354			
3	- 4	-0.2000	-1.1354	0.7354			
3	- 8	0.4667	-0.4687	1.4020			
3	- 1	0.7000	-0.2354	1.6354			
3	- 2	1.0667	0.1313	2.0020	***		
8	- 6	-3.8667	-4.8020	-2.9313	***		
8	- 7	-1.0000	-1.8366	-0.1634	***		
8	- 5	-0.9667	-1.8033	-0.1300	***		
8	- 4	-0.6667	-1.5033	0.1700			
8	- 3	-0.4667	-1.4020	0.4687			
8	- 1	0.2333	-0.6033	1.0700			
8	- 2	0.6000	-0.2366	1.4366			
1	- 6	-4.1000	-5.0354	-3.1646	***		
1	- 7	-1.2333	-2.0700	-0.3967	***		
1	- 5	-1.2000	-2.0366	-0.3634	***		
1	- 4	-0.9000	-1.7366	-0.0634	***		
1	- 3	-0.7000	-1.6354	0.2354			
1	- 8	-0.2333	-1.0700	0.6033			
1	- 2	0.3667	-0.4700	1.2033			
2	- 6	-4.4667	-5.4020	-3.5313	***		
2	- 7	-1.6000	-2.4366	-0.7634	***		
2	- 5	-1.5667	-2.4033	-0.7300	***		
2	- 4	-1.2667	-2.1033	-0.4300	***		
2	- 3	-1.0667	-2.0020	-0.1313	***		
2	- 8	-0.6000	-1.4366	0.2366			
2	- 1			-0.3667		-1.2033	0.4700

Anexo A. Protocolo Técnica In vitro de producción de gases.

TÉCNICA *In Vitro* DE PRODUCCIÓN DE GASES

(Brooks, A. and Theodorou, M. K. 1992)

(Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT

(Adaptado por Narváez J. P., Delgado J. M. Universidad de Nariño – Pasto – Colombia 2011)

(Ajustado y validado por Achicanoy F. J. Trabajo para optar al Título de Master en Producción Animal – Universidad de Nariño - 2014)



INTRODUCCIÓN

La ganadería en Colombia es un renglón cultural y socioeconómico relevante para el desarrollo del agro, especialmente para el departamento de Nariño, quien se ha caracterizado por su vocación agrícola. Esta actividad se lleva a cabo en gran parte del territorio, incrementándose notablemente en los últimos años; sin embargo es fuertemente cuestionada debido al uso irracional del recurso edáfico, hídrico y ambiental de la región, especialmente en suelos frágiles de ladera en trópico alto, donde es más notable el impacto ambiental causado. La problemática enunciada podría considerar a futuro la creación de políticas que conduzcan a regular el número de bovinos manejados por cada región o buscar la manera de hacerlos más eficientes con base en los recursos existentes.

Por otra parte, el crecimiento incontrolado de la población humana no es proporcional con la oferta de alimentos, especialmente con los de origen animal, y por ende, es un compromiso para los profesionales del sector agropecuario maximizar la eficiencia y sostenibilidad de los sistemas productivos; reducir los costos de producción y manejar en forma holística los conceptos de integralidad entre la agricultura, la ganadería y la silvicultura para evitar el colapso medioambiental que se avecina.

El panorama anterior destaca la importancia que tienen la ganadería de leche para el desarrollo socioeconómico del departamento, y por ende la necesidad de buscar alternativas que permitan potencializar los sistemas productivos actuales haciendo uso de los recursos de la región de una manera viable, amigable y sostenible con el medioambiente.

La presente investigación permitió identificar qué tipo y cantidad de gases efecto invernadero emiten las praderas más comúnmente usadas en los sistemas de producción lechera del municipio de Pasto y cuales especies forrajeras permiten reducir las emisiones.

Un alto porcentaje de la energía contenida en los forrajes no es provechada en su totalidad por el animal, ésta se desperdicia al transformarse por diferentes procesos bioquímicos o fermentativos en gas metano, energía que podría ser utilizada eficientemente para mejorar los procesos de mantenimiento, producción y reproducción del hato lechero y consigo la rentabilidad y sostenibilidad de la empresa agropecuaria.

METODOLOGÍA.

Aforo, muestreo e identificación de muestras bromatológicas

En cada finca se tomó una muestra representativa de la mezcla forrajera usada en la alimentación de las vacas en producción, en total ocho fincas de dos sistemas lecheros de Pasto – Nariño (Praderas no tecnificadas y tecnificadas). El trabajo consistió en cuantificar la producción de biomasa mediante el respectivo aforo, clasificación botánica y taxonómica por cada finca y pradera evaluada. El material forrajero fue rotulado y llevado a los laboratorios de la Universidad de Nariño, donde se realizaron los respectivos análisis y pruebas.



Secado.

El contenido y la naturaleza de varios constituyentes del alimento y por consiguiente, la cinética de fermentación, pueden ser influenciados por la temperatura y el proceso de secado del sustrato. La mayoría de los autores recomiendan hacer secado por congelación o en horno a baja temperatura (60 o 70°C) (Williams 2000; Rosero 2002).

En el laboratorio la muestra de forraje verde es pesada, picada e ingresada a horno para su secado. El periodo de tiempo que la muestra puede permanecer en el horno es de 48 horas o hasta que obtenga peso constante. Una señal es que el pasto esté crocante al tacto con la mano.

Al finalizar el tiempo mencionado en el horno, el material es pesado nuevamente con el fin de para calcular el porcentaje de humedad perdido durante el proceso y de esta manera calcular su MS por diferencia.

Molienda

Después de haber sido secadas las muestras de las praderas, son llevadas a molino para reducir el tamaño del material y facilitar su posterior análisis, momento en el cual tomarán el nombre de sustratos.

Un menor tamaño de partícula aumenta el área de superficie para la degradación microbiana. Para el análisis de producción de gas, se recomienda moler los sustratos a través de una malla de 1 mm y el peso de la muestra varía entre 0.1 a 1g (Williams 2000).

Después la molienda de cada muestra o pastura, el molino debe ser limpiado totalmente con ayuda de una brocha o cepillo, esto permitirá que no haya contaminación de muestras por residuos entre un proceso y otro



Preparación de los frascos de incubación

La incubación se debe realizar en frascos de vidrio (viales N20) con capacidad de 120 ml, los cuales, previo al inicio del experimento, deben ser lavados y secados en una estufa a 105°C por 12 horas.

Posteriormente se procede a la rotulación de los frascos, para lo cual se recomienda utilizar materiales resistentes al agua, de tal manera que se evite perder la información durante el proceso, ya que estos permanecen sumergidos en agua a 39° durante un periodo de 72 horas consecutivas.

A continuación se agrega 1 gramo de sustrato en cada frasco, cada frasco a incubarse representa una réplica.

Se tapa con corchos de goma desechables y se conserva, en tanto se prepara el medio de digestión.



PREPARACIÓN DEL MEDIO

SOLUCIONES REQUERIDAS:

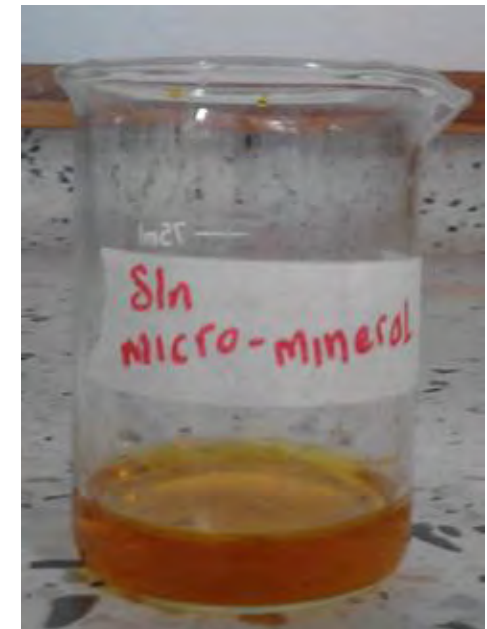
Todos los medios en uso tienen en común: tampón de bicarbonato y fosfato, un agente reductor, una fuente de nitrógeno, varios minerales, y resazurín como indicador de potencial redox. En todos los casos, el CO₂ es usado durante la preparación del medio para asegurar un bajo potencial redox al momento de la inoculación, ya que la ausencia de anaerobiosis resulta en pérdidas de bacterias celulolíticas y amilolíticas (Williams 2000). Grant y Mertens (1992) indican que el gaseo continuo con CO₂ y los agentes reductores promueven un menor tiempo de colonización y una más rápida digestión de la FDN.

A continuación se describe el procedimiento para la preparación del medio de digestión para 100 frascos, proceso que debe realizarse un día antes de la inoculación de las mismas y del inicio de la prueba.

1. Solución micro-mineral

En 10 ml de agua se adiciona 1,32 g de Calcium chloride 2-hydrate (CaCl₂·2H₂O), 1 g de Manganese chloride 4-hydrate (MnCl₂·4H₂O), 0,1 g de chloride 6-hydrate (CoCl₂·6H₂O) y 0,8 g de chloride 6-hydrate (FeCl₃·6H₂O), se mezcla, se rotula y se reserva.

En 1681 ml de agua destilada se adiciona 3.4 g de peptona liofilizada y 1.7 ml de solución micro-mineral, homogenizando completamente, se reserva y se marca como "Solución 1"



2. *Solución buffer*

En 3400 ml de agua destilada previamente calentada a 39° se adicionan cuidadosamente 13,6 g de Amonium hydrogen Carbonate (NH_4HCO_3) y 119 g de hydrogen Carbonate (NaHCO_3) mezclando hasta conseguir una completa disolución. Esta solución se reserva en refrigeración y se marca como “Solución 2”

3. *Solución macro-mineral*

De la misma manera en otro recipiente que contenga 3400 ml de agua destilada previamente calentada a 39° se adiciona 15,2 g de di-Sodium hydrogen Orthopospate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$), 21,08 g de di-Hydrogen Orthopospate (KH_2PO_4) y 2,04 g de Magnesium sulphate ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), y la solución se reserva como “Solución 3 “

4. *Solución de Resazurín*

En 25 ml de agua se disuelven 0,025 g de resazurín.

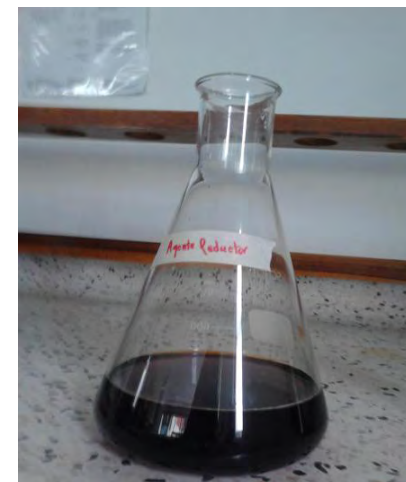




5. Agente reductor

En 400 ml de agua se mezclan la cisteína (2,5 g), el NaOH 1M (16 ml) y el Sodium sulphide (2,5 g). En caso de no disponer de NaOH 1M, se prepara mediante la disolución de 4 gramos de NaOH en 100 ml de agua

Una vez se tienen las soluciones 1, 2 y 3, junto con la solución de Resazurín y el agente reductor, se proceden a mezclar en un recipiente amplio todas las soluciones, en el siguiente orden y cantidades:



1681 ml de solución 1

3400 ml de la solución 2

3400 ml de la solución 3 y

17 ml de solución de Resazurín



Una vez se ha homogenizado completamente, se gasea por espacio de 5-10 minutos con CO₂.



Tras haber gaseado y con la ayuda de una probeta, se agregan 85 ml de la mezcla a cada una de los frascos a incubar, (las cuales ya contienen 1 gramo del sustrato a evaluar) adicionando posteriormente 4 ml de solución reductora.

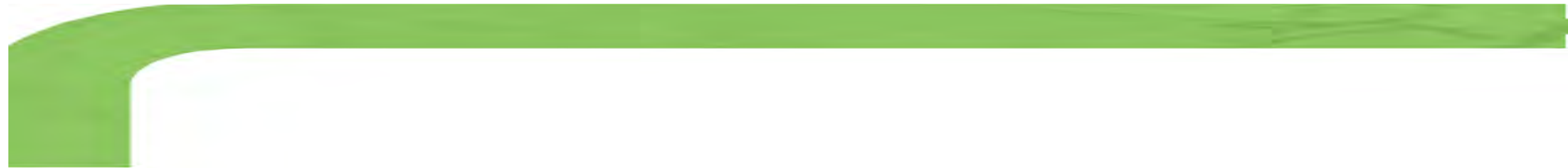
Cuando los frascos contienen el sustrato, el medio y la solución reductora, se tapan con corchos de goma y se llevan a refrigeración hasta el día siguiente a una temperatura de 4 – 5 ° C.

INÓCULO

Obtención. El día de recolección del inóculo se alista previamente un termo precalentado a 39° con agua caliente, suficiente gasa plegada en 4 dobleces para el filtrado, embudo y recipiente amplio.



Como regla general, se recomienda coleccionar el inóculo antes de la alimentación y por lo menos de tres animales consumiendo la misma dieta básica. (Williams 2000). En el caso de coleccionar inóculo de tipo fecal, esta colección se debe de hacer en horas de la mañana y *per rectum* con la ayuda de mangas plásticas, descartando siempre las primeras porciones encontradas a lo largo de la porción terminal del tracto digestivo.



PREPARACIÓN

Una vez
antes de



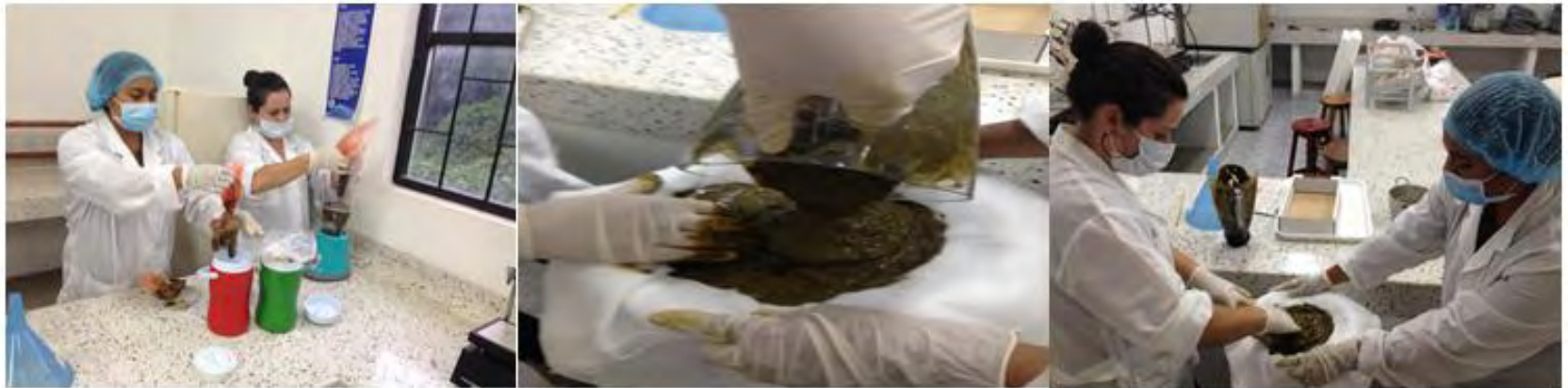
colectado el inóculo y depositado en los termos, debe transportarse prontamente hasta el laboratorio, (30-45 minutos máximo) donde será filtrado a través de la gasa hacia un recipiente amplio e inmediatamente aclimatarlo a 39°, se gasea constantemente con CO₂ la inoculación.

Cuando la consistencia del inóculo dificulta el proceso de filtrado, se debe preparar una cantidad adicional de tampón para mezclarla y así garantizar su homogenización.
La cantidad de solución tampón a utilizar puede manejarse en una proporción de 1 a 2, es decir 2 partes de inóculo fecal por 1 de solución tampón.



Ya en el laboratorio la muestra debe ser licuada, pues el licuado incrementa en el inóculo el número de bacterias previamente adheridas a la fibra, la mayoría celulolíticas, pero también el número de partículas pequeñas del alimento, por lo que la producción de gas en los frascos de incubación y en los blancos se hace mayor (Pell y Schofield 1993).

El procedimiento de licuado puede también aumentar el riesgo de exposición al oxígeno si el flujo de CO₂ no es suficientemente fuerte (Williams 2000).



Proporción de inóculo a medio. 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 inóculo adicionado varía ampliamente entre grupos (Williams 2000). Algunas proporciones líquido ruminal: tampón son 1:2 (Cone et al 1996; Menke y Steingass 1998); 1:4 (Pell y Schofield 1993), 1:9 (Theodorou et al 1994; Mauricio et al 1999).



Previo a la inyección del inóculo en cada uno de los frascos a incubar, estas, deben ser retiradas de refrigeración y calentadas a baño maría, a una temperatura de 39°

Tras el gaseado continuo, el que asegura la sobrevivencia microbiana, con la ayuda de jeringas se adiciona 10 ml de inóculo a cada botella.



Posteriormente ser llevadas a baño maría donde se llevará a cabo todo el proceso de fermentación

Una vez inoculados, los frascos se tapan y se sellan con los corchos plásticos y corchos de aluminio con la ayuda del Crimper manual, se ajusta la presión a cero



Finalmente cada uno de los frascos deberá contener:

1 gramo de muestra
85 ml de medio de digestión
4 ml de agente reductor
10 ml de inóculo

Blancos. Una serie de frascos denominados como blanco que contienen medio e inóculo pero no sustrato, es rutinariamente incluida en cada corrida. El promedio de gas registrado por los blancos, que normalmente corresponde al 13-27% de la lectura final, es sustraído desde el total de gas producido por los sustratos evaluados, obteniendo así el total de gas realmente derivado desde la fermentación del sustrato.(Pell y Schofield 1993; Schofield 2000).



Estándares. Al igual que los blancos, los estándares (tres frascos con heno, heno + almidón, concentrado o pasturas de producción de gas conocida) son corridas en cada experimento. Cada estándar tiene una producción de gas conocida, determinada por el promedio de muchas réplicas. Si el estándar incluido dentro de una corrida produce entre el 90 y el 110% del gas con respecto al valor promedio, entonces el fluido ruminal es calificado como normal y todas las medidas de volumen de gas son corregidas por el factor "promedio del volumen estándar/volumen estándar de la corrida". Si, por el contrario, el volumen estándar de la corrida está situado por fuera de este rango, el dato de la corrida es desechado (Schofield 2000).

LECTURAS DE PRESIÓN Y VOLUMEN

Metodología

Simultaneo al proceso de fermentación, se realizan las lecturas de gas producido; la presión (psi=libras por pulgada cuadrada) originada por los gases acumulados en la parte superior de los frascos se mide a través de un transductor de presión tipo 158005 PSA-1 Autonics (análogo de la versión del Transductor de presión tipo T443A Bailey y Mackey, Inglaterra), con lector digital conectado a una fuente de energía de 15 voltios y a una válvula de tres salidas. La primera salida se debe conectar a una aguja (0.7 mm), la segunda es conectada al transductor de presión y la tercera a una jeringa plástica que sirve para la medición del volumen de gas.

Para la medición de la presión, la aguja acoplada a la válvula debe ser insertada a través de la tapón de caucho, y para la medición del volumen, los gases acumulados en la parte superior se retiran con el uso de la jeringa hasta el momento en que la presión registrada en el lector digital alcance a ser cero, y se desechan.

Este proceso se repite en todos los frascos y después de las lecturas deben ser manualmente agitados y reubicados en el baño maría.

Las lecturas recomendadas para obtener una adecuada curva de degradación del material incubado, se realizan a las 0, 3, 6, 12, 24, 48, y 72 horas y los datos obtenidos deben ser transferidos a un computador para su análisis posterior.



MUESTRA PARA CROMATOGRAFÍA

Una vez concluido el proceso de fermentación, los frascos se deben almacenar en refrigeración a 4°C hasta el filtrado.

Gas Metano. Uno de los objetivos del empleo de la técnica, es lograr cuantificar la producción de gases con potencial de efecto invernadero, y para ello se requiere de la toma de muestras que posteriormente serán analizadas mediante cromatografía de gases.

Para dicho objetivo se debe incubar una botella adicional por muestra corrida de la que se extraen los gases acumulados y con ayuda de una jeringa se transfiere el gas producido a viales de vidrio de 10 ml previamente sellados y ajustados la presión a cero, los que se refrigeran a 4°C hasta tanto puedan ser analizados.

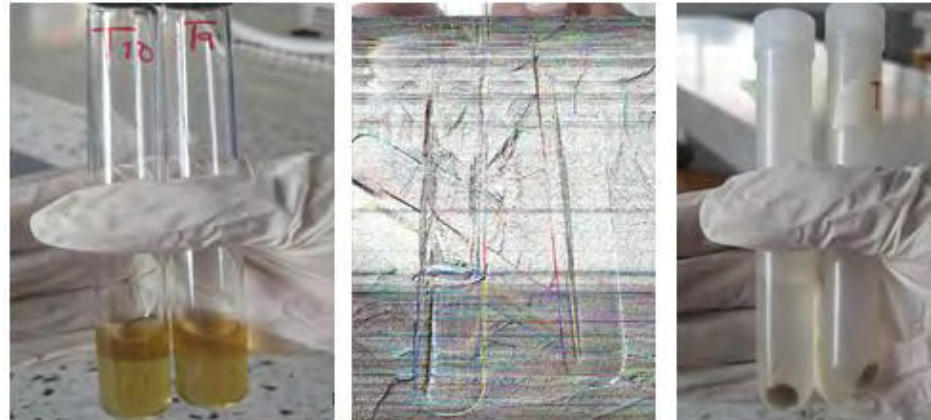
Para el momento de su análisis, se extrae de los viales el gas con una jeringa Headspace Soil Gas y se inyectan en el cromatógrafo.



ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES (AGV's)

Para el caso de análisis y cuantificación de AGVs, de cada botella adicional que se ha incubado por muestra corrida, se toma una alícuota de sobrenadante, la que se somete al siguiente procedimiento para su posterior análisis en el cromatógrafo:

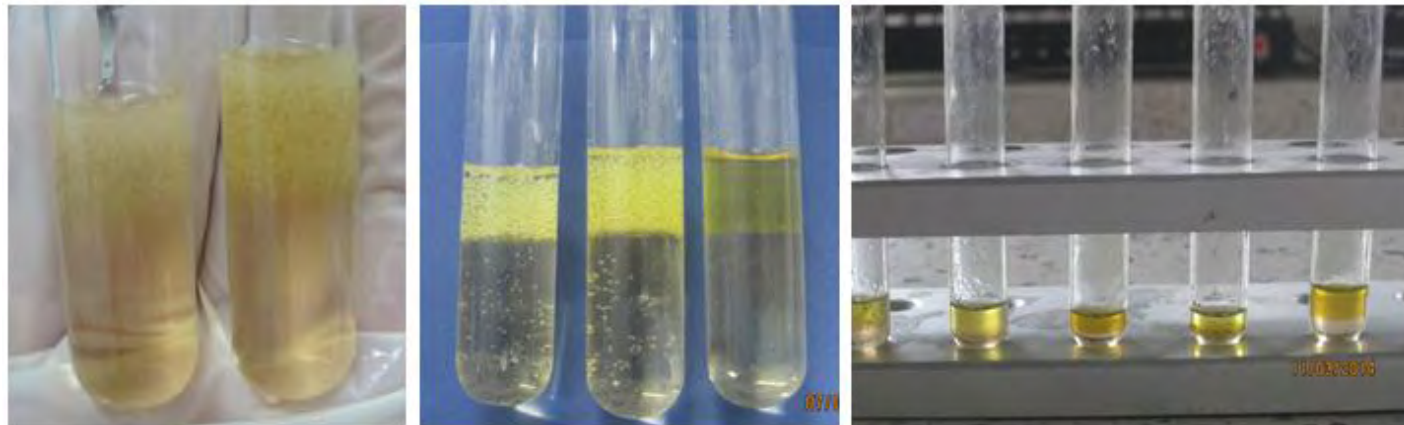
2 ml de sobrenadante de cada muestra se depositan en tubos de ensayo de vidrio con tapa rosca, se les adiciona 2 ml de ácido fosfórico al 30% y se refrigera a 4°C durante 24 horas.



Tras una refrigeración de mínimo 24 horas, las muestras se transfieren a tubos de ensayo de plástico con tapa rosca, para ser centrifugados a 8000 rpm, por diez minutos a fin de separar sólidos de líquidos; la fase líquida de cada muestra se transfiere nuevamente a tubos de ensayo de vidrio y se congelan durante 12 horas.

Posteriormente a cada muestra se le adicionan 2 ml de éter etílico y se agita manualmente por espacio de 3 minutos liberando el gas producido de forma gradual; tras la agitación se formaran tres fases fácilmente identificables en el interior de los tubos. Una fase superficial denominada fase etérea u orgánica en la que se hallan contenidos los AGVs y demás compuestos apolares solubles en éter, una fase intermedia a especie de gel, denominada fase de quelatos, la que contiene compuestos de mayor complejidad, y una fase inferior de consistencia más líquida formada por otro tipo de compuestos.

Nuevamente las muestras se refrigeran mínimo por 24 horas, después de las cuales se separa la fase etérea y de quelatos de los tubos, a cuyas porciones se le adiciona 1 ml de solución de NaCl al 10%, se agita y se refrigera por 3 horas con el fin de permitir mayor diferenciación de la fase etérea.



Posteriormente las muestras se sonicán en un equipo de ultrasonido por 15 minutos aproximadamente y una vez más se separa la fase etérea del resto de los componentes encontrados en la muestra.

El procedimiento siguiente es derivatizar mediante la adición de 5 ml de metanol ácido clorhídrico al 5%, dejar las muestras durante la noche en incubación a 50°C, posteriormente adicionar éter y agua destilada para separar las fases hasta obtener la fase etérea lo más diferenciada posible de la que 2 ml se inyectan en el cromatógrafo para su respectivo análisis e identificación de acetato, propionato y butirato principalmente.



FILTRADO DE RESIDUOS

METODOLOGIA

Se retiran los frascos de refrigeración para continuar con el proceso de filtración con el fin de determinar la degradabilidad de la materia seca y cenizas. Durante este proceso se debe cuidar minuciosamente el evitar la pérdida de residuo durante el lavado de los frascos, pues de ello depende una acertada determinación de la degradabilidad de la materia seca y demás componentes del alimento.



Después del filtrado a través de crisoles cada una de las muestras se seca en estufa a 105°C por 24 horas, posteriormente se pasan a desecadores por 20 minutos y se toma el peso correspondiente a cada muestra para estimar la degradabilidad de la materia seca.



Y luego el residuo se incinera en mufla a 600°C por tres a cuatro horas, o por observación cuando esta pase de un color oscuro a blanco grisáceo para la determinación de la degradabilidad de la materia orgánica, no olvidemos que al sacar de la mufla deben pasar a estufa durante 20 minutos posteriormente a secador y por ultimo pesaje.



MATERIALES DE LABORATORIO Y EQUIPOS UTILIZADOS EN LA TÉCNICA *In vitro* DE PRODUCCIÓN DE GASES



SOLUCIONES REQUERIDAS

	Base	30 Botellas	60 Botellas	80 Botellas	100 Botellas	120 Botellas	150 Botellas
Solución Buffer	g/litro	g/1020 ml	g/2040 ml	g/2720 ml	g/3400 ml	g/4080	g/5100 ml
Amonium hydrogen Carbonate (NH ₄ HCO ₃)	4	4,08	8,16	10,88	13,6	16,32	20,4
Sodium hydrogen Carbonate (NaHCO ₃)	35	35,7	7,14	95,2	119	142,8	178,5
Solución macro-mineral	g/litro	g/1020 ml	g/2040 ml	g/2720 ml	g/3400 ml	g/4080	g/5100 ml
Di-Sodium hydrogen Orthopospate (Na ₂ HPO ₄ -12 H ₂ O)	9,45	4,56	9,12	12,16	15,2	18,24	22,8
Potassium di-hydrogen Orthopospate (KH ₂ PO ₄)	6,2	6,324	12,648	16,864	21,08	25,296	31,62
Magnesium sulphate (MgSO ₄ -7H ₂ O)	0,6	0,612	1,224	1,632	2,04	2,448	3,06
Solución micro-mineral	g/100 ml	g/3 ml	g/6 ml	g/8 ml	g/10 ml	g/12 ml	g/15 ml
Calcium chloride 2-hydrate (CaCl ₂ -2H ₂ O)	13,2	0,396	0,792	1,056	1,32	1,584	1,98
Manganese chloride 4-hydrate (MnCl ₂ -4H ₂ O)	10	0,3	0,6	0,8	1	1,2	1,5
Cobalt chloride 6-hydrate (CoCl ₂ -6H ₂ O)	1	0,03	0,06	0,08	0,1	0,12	0,15
Ferric chloride 6-hydrate (FeCl ₃ -6H ₂ O)	8	0,24	0,48	0,64	0,8	0,96	1,2
Solución de Resazurín	g/100 ml	g/7,5 ml	g/15 ml	g/20 ml	g/25 ml	g/30 ml	g/37,5 ml
Resazurín (C ₁₂ H ₆ NO ₄ Na)	0,1	0,0075	0,015	0,02	0,025	0,03	0,037
Agente reductor	g/100 ml	g/120 ml	g/240 ml	g/320 ml	g/400 ml	g/480 ml	g/600 ml
Cysteine HCl-HO ₂ CCH(NH ₂)CH ₂ SH	0,625	0,75	1,5	2	2,5	3	3,75
Hidróxido de sodio 1M (NaOH) 1M	4 ml	4,8	9,6	12,8	16	19,2	24
Sodium sulphide (Na ₂ SO ₄)	0,625	0,75	1,5	2	2,5	3	3,75
Medio de digestión							
Agua destilada	500 ml	504,3 ml	1008,6 ml	1344,8 ml	1681 ml	2017,2 ml	2521 ml
Caseína o trypticase peptona	0,2 g	1,02 g	2,04 g	2,72 g	3,4 g	4,08 g	5,1 g
Solución micro-mineral	0,1 ml	0,51 ml	1,02 ml	1,36 ml	1,7 ml	2,04 ml	2,5 ml
Solución buffer	200 ml	1020 ml	2040 ml	2720 ml	3400 ml	4080 ml	5100 ml
Solución macro-mineral	200ml	1020 ml	2040 ml	2720 ml	3400 ml	4080 ml	5100 ml
Solución de resazurín	1ml	5,1 ml	10,2 ml	13,6 ml	17 ml	20,4 ml	25 ml



PROCESO DE FEMENTACIÓN

2 Acuarios de 50cm*50cm*150cm
3 Termostatos
2 Gradillas con capacidad de 60 frascos cada una.
2 Termómetros
1 Nevera
1 Crimper manual
100 Frascos de vidrio color ambar (120 ml)
100 Corchos de goma
100 Sellos de aluminio

LECTURAS DE PRESIÓN Y VOLUMEN

1 Transductor de presión
5 Jeringas de 50 ml
100 Agujas de 0.07 mm
1 Llave de tres vías
12 pares de guantes desechables de nitrilo

ÁCIDOS GRASOS VOLATILES (AGV's)

Ácido fosfórico al 30%
Éter etílico
Cloruro de sodio (NaCl) al 10%
Tubos de ensayo de 10 ml, de vidrio con tapa rosca
Tubos de ensayo de 10 ml, de plástico con tapa rosca
Gradillas
Pipeta Pasteur
Propipeta
Pipetas de 2ml