

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN AGROECOLOGÍA Y AMBIENTE

Tema:

**“CAPACIDAD DE DEFAUNACIÓN RUMINAL Y MITIGACIÓN
DE GASES DE EFECTO INVERNADERO: EFECTO DE
LEGUMINOSAS FORRAJERAS ARBÓREAS Y ARBUSTIVAS”**

Trabajo de titulación:

Previo a la obtención del Grado Académico de Magíster en
Agroecología y Ambiente

Autor: Ing. Silvia Patricia Manotoa Chicaiza

Director: Ing. Marcos Antonio Barros Rodríguez, Ph.D.

Ambato - Ecuador
2016

Al Consejo de Posgrado de la Universidad Técnica de Ambato.

El Tribunal de Defensa del trabajo de titulación presidido por el Ingeniero José Hernán Zurita Vásquez, Magister Presidente del Tribunal, e integrado por los señores Ingeniero Ángel Wilfrido Yáñez Yáñez Magister, Doctor. Pedro Díaz Sjostrom Master, Ingeniero Segundo Euclides Curay Quispe Magister, designados por el Consejo Académico de Posgrado de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, para receptor la defensa oral del trabajo de titulación con el tema: **“CAPACIDAD DE DEFAUNACIÓN RUMINAL Y MITIGACIÓN DE GASES DE EFECTO INVERNADERO: EFECTO DE LEGUMINOSAS FORRAJERAS ARBÓREAS Y ARBUSTIVAS”**, elaborado y presentado por la Señorita Ingeniera Silvia Patricia Manotoa Chicaiza, para optar por el Grado Académico de Magíster en Agroecología y Ambiente

Una vez escuchada la defensa oral el Tribunal aprueba y remite el trabajo de titulación para uso y custodia en las bibliotecas de la UTA

Ing. José Hernán Zurita Vásquez, Mg.
Presidente del Tribunal de Defensa

Ing. Ángel Wilfrido Yáñez Yáñez, Mg.
Miembro del Tribunal

Dr. Pedro Díaz Sjostrom, MSc.
Miembro del Tribunal

Ing. Segundo Euclides Curay Quispe, Mg.
Miembro del Tribunal

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el trabajo de titulación con el tema: “CAPACIDAD DE DEFAUNACIÓN RUMINAL Y MITIGACIÓN DE GASES DE EFECTO INVERNADERO: EFECTO DE LEGUMINOSAS FORRAJERAS ARBÓREAS Y ARBUSTIVAS”, le corresponde exclusivamente a la Ing. Silvia Patricia Manotoa Chicaiza, Autora bajo la Dirección de Ing. Marcos Antonio Barros Rodríguez Ph.D, Director del trabajo de titulación; y el patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.

.....
Ing. Silvia Patricia Manotoa Chicaiza

Autora

.....
Ing. Marcos Antonio Barros Rodríguez, Ph.D

Director

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este trabajo de titulación como un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los Derechos de mi trabajo de titulación, con fines de difusión pública, además autorizo su reproducción dentro de las regulaciones de la Universidad.

Ing. Silvia Patricia Manotoa Chicaiza

C.C. 180364410-1

DEDICATORIA

Mi vida, mis sueños y todo lo que pueda lograr se lo debo a mi pequeño Ángel, sé que un día estarás en mis brazos.

A mi hija Emilia, su dulzura y amor hacen que no me rinda cada día.

A mis padres y mi hermana, gracias por su apoyo, y dedicación.

AGRADECIMIENTOS

La gratitud es el principio que ennoblece a todo ser humano, por eso me permito expresar mi profundo reconocimiento al esfuerzo diario de mi padre, y la palabra oportuna de mi madre, que han hecho posible mi formación académica y personal.

Un amplio agradecimiento a la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias por su aporte necesario para la finalización de esta investigación, de manera especial al Ing. Marcos Barros Ph.D, por compartir conmigo sus conocimientos, su guía y tiempo.

A mi familia y amigos que son la fuerza que complementa mi vida, gracias por su apoyo y cariño incondicional sobre todo en los momentos más difíciles de mi vida.

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCION	1
CAPÍTULO I.....	2
EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.1. TEMA DE INVESTIGACIÓN	2
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.2.1. Contextualización.....	2
1.2.2. Análisis crítico	3
1.2.2.1. Árbol de problemas	3
1.2.3. Formulación del problema	4
1.2.4. Preguntas directrices	4
1.2.5. Delimitación.....	4
1.2.5.1. Delimitación espacial	4
1.2.5.2. Delimitación Temporal.....	4
1.3. JUSTIFICACIÓN.....	5
1.4. OBJETIVOS.....	6
1.4.1. Objetivo general	6
1.4.2. Objetivos específicos	6
CAPÍTULO II	7
MARCO TEÓRICO.....	7
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	7
2.2. FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA	8
2.3. FUNDAMENTACIÓN LEGAL	8
2.4. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES.....	10
2.4.1. Gases de efecto invernadero.....	10
2.4.2. Efecto de la Ganadería en el medio ambiente.....	10
2.4.3. Metano en los Rumiantes	11
2.4.3.1. Fermentación entérica	12
2.4.3.2. Microorganismos metanogénicos.....	13
2.4.3.3. El Rumen.....	13
2.4.3.4. Ecología ruminal	14
2.4.3.5. pH ruminal.....	14
2.4.4. Defaunación Ruminal.....	15
2.4.5. Taninos y saponinas para la reducción de gas metano.....	15
2.4.6. Árboles y Arbustos Leguminosos	16
2.4. Hipótesis	17

2.5.	Señalamiento de variables de la hipótesis	17
CAPÍTULO III.....		18
METODOLOGIA		18
3.1.	Modalidad de la investigación.....	18
3.2.	Nivel o tipo de investigación.....	18
3.3.	Operacionalización de variables.....	18
3.3.1.	Variable independiente: Valor nutricional de varias especies de árboles y arbustos leguminosos	18
3.3.2.	Variable dependiente: Degradación <i>in situ</i> , producción de gas y digestibilidad <i>in vitro</i> , población de protozoarios.	19
3.4.	PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.....	19
3.4.1.	Ubicación del ensayo	19
3.4.2.	Caracterización del lugar.....	19
3.4.3.	Metodología utilizada.....	20
3.5.	PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.....	21
3.5.1.	Factores de estudio	21
3.5.2.	Tratamientos.....	21
3.5.3.	Diseño experimental.....	21
3.5.4.	Análisis estadístico.....	21
4.1.	RESULTADOS	22
4.2.	DISCUSIÓN.....	23
4.3.	VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS	27
6.1	Datos Informativos	29
6.2	Antecedentes de la propuesta	29
6.3	Justificación.....	29
6.4	Objetivos	30
6.5	Análisis de factibilidad	30
6.6	Fundamentación	30
6.7	Metodología.....	31
6.8.	Administración	31
6.9.	Previsión de la evaluación.....	31
REFERENCIA		32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Operacionalización de variable independiente.	18
Tabla 2.	Operacionalización de variable dependiente.	19
Tabla 3.	Tratamientos forraje árboles y arbustos leguminosos	21
Tabla 4.	Screening fitoquímico de leguminosas arbóreas y arbustivas	22
Tabla 5.	Digestibilidad Aparente (g/kgMS), producción de gas (ml/0.5 g/MSF) y poblaciones de protozoarios ruminal <i>in vitro</i> (log ₁₀).	24
Tabla 6.	Degradación ruminal <i>in situ</i> (g/kgMS) de leguminosas arbóreas y arbustivas.	26

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN DE POSGRADO
MAESTRÍA EN AGROECOLOGÍA Y AMBIENTE

Tema: “CAPACIDAD DE DEFAUNACIÓN RUMINAL Y MITIGACIÓN DE GASES DE EFECTO INVERNADERO: EFECTO DE LEGUMINOSAS FORRAJERAS ARBÓREAS Y ARBUSTIVAS”

Autor: Ing. Silvia Patricia Manotoa Chicaiza

Director: Ing. Marcos Antonio Barros Rodríguez, Ph.D

Fecha: 04 de diciembre del 2015

RESUMEN EJECUTIVO

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de los forrajes de leguminosas arbóreas y arbustivas sobre las funciones *in vitro* e *in situ* del rumen y población de protozoarios. Se utilizó un toro de aproximadamente 350 kg de peso vivo, provisto de una cánula en el rumen. Se evaluaron los siguientes forrajes (Tratamientos) *Inga feuleei*, *Prosopis pallida*, *Tecoma stans*, *Lupinus albus*, *Erythrina edulis*, *Leucaena leucocephala*, *Gliricidia sepium*, *Cytisus monspessulanus*, *Acacia melanoxyton*, *Acacia farnesiana*, se determinó: screening fitoquímico, degradación ruminal *in situ* de la MS, digestibilidad aparente de la MS *in vitro*, producción de gas *in vitro* y protozoarios ruminales. En todas las leguminosas utilizadas se encontraron polifenoles, y saponinas, la presencia de alcaloides y taninos no fue de la misma concentración en los forrajes utilizados. *C. Monspessulanus* obtuvo mayor ($P<0.05$) digestibilidad (67.8%), *L. leucocephala* mostro la menor ($P<0.05$) cantidad de producción de gases de efecto invernadero (222.6 ml/0.5 g/MSF), los protozoarios Holotricos se redujeron ($P<0.05$) notablemente en la hora 48, mientras que los Entodiniomorfos mostraron diferencia ($P<0.05$) en la *L. leucocephala* en comparación con los demás forrajes. Se obtuvo mayor degradación de la fracción soluble (A) e insoluble pero potencialmente degradable (B) en *L. albus* (823.2 g/kgMS). Estas especies mejoraron las funciones ruminales del animal.

Descriptor: leguminosas, digestibilidad *in vitro*, degradación *in situ*, protozoarios, producción de gas *in vitro*.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN DE POSGRADO
MAESTRÍA EN AGROECOLOGÍA Y AMBIENTE

Theme: “RUMINAL DEFAUNATION CAPACITY AND MITIGATION OF GREENHOUSE GASES: EFFECT OF LEGUMES TREES AND SHRUBS”

Author: Ing. Silvia Patricia Manotoa Chicaiza

Director by: Ing. Marcos Antonio Barros Rodríguez, Ph.D

Date: december 04, 2015

SUMMARY

The aim of this research was to determine the effect of tree and shrub forage legumes on the functions *in vitro* and *in situ* rumen and protozoa population. A bull about 350 kg live weight, provided with a rumen cannula was used. The following forage (treatments) were evaluated; *Inga feuleei*, *Prosopis pallida*, *Tecoma stans*, *Lupinus albus*, *Erythrina edulis*, *leucocephalla Leucaena*, *Gliricidia sepium*, *Cytisus monspessulanus*, *melanoxylon Acacia* and *Acacia farnesiana*. It's evaluated: phytochemical screening, *in situ* rumen degradation MS, apparent digestibility, *in vitro* gas production and rumen protozoa. In all legumes polyphenols and saponins was found. The presence of alkaloids and tannins was not of the same concentration in all forages used. *C. monspessulanus* showed higher ($P<0.05$) digestibility (67.8%). *Leucaena* showed low ($P<0.05$) amount of production greenhouse gas (222.6 ml/0.5 g/FDM). The holotrichs protozoa were significantly ($P<0.05$) reduced in the 48 hour, while Entodiniomorfos showed difference ($P<0.05$) in *L. leucocephala* compared to other fodder. Higher ($P<0.05$) degradation of the soluble fraction (A) and insoluble but potentially degradable (B) shown in forage *L. albus* (823.2 g / kg DM). These species improved the animal rumen functions.

Descriptors: legumes, *in vitro* digestibility, *in situ* degradation, protozoa, *in vitro* gas production.

INTRODUCCION

La presente investigación se enfoca en la disminución de gas metano emitido por rumiantes por medio de la utilización de especies forrajeras leguminosas, debido a su alto contenido nutricional se pretende demostrar que estas especies son una alternativa en la alimentación, ya que reducen la emisión de gas metano y protozoarios presentes y de esta manera minimizan el impacto ambiental causado.

Las consecuencias del cambio climático son ahora un problema causado por nuestra ceguera globalizadora, desde la revolución industrial la concentración de CO₂, que es el principal gas de efecto invernadero el cual contribuye un 64% en la atmósfera ha ido aumentando de forma significativa (un 30% más que en 1975), el metano (CH₄), con un potencial de calentamiento mucho mayor que el del CO₂, aumentó en un 150% (Quesada y Certificación 2009). El gas metano que generan los rumiantes aportan al calentamiento global, afectando al medio ambiente y con esto a los sistemas de producción agropecuaria, además la energía alimenticia transformada en gas metano es desaprovechada por el animal, es importante plantear alternativas que disminuyan estas emisiones, mejorar las condiciones de los sistemas productivos ganaderos, e intentar reducir los efectos en la contaminación medioambiental (Carmona, Bolívar et al. 2005).

Los procesos que se desarrollan en el rumen son un punto clave para la valoración nutritiva de los alimentos y la elaboración de dietas equilibradas para los rumiantes, que poseen la capacidad de digerir y fermentar los componentes de los vegetales, debido a la simbiosis entre el animal y el ecosistema que alberga en el rumen (Saro Higuera 2013).

Las especies arbóreas y arbustivas son una fuente importante de alimento forrajeros para animales, con un alto valor nutricional, la degradabilidad de estas especies es variable, dependiendo de factores antinutricionales presentes, modificando la población de microorganismos ruminales, además se observa efectos defaunantes que se puede relacionar con metabolitos secundarios presentes (Galindo, Delgado et al. 2005)

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. TEMA DE INVESTIGACIÓN

Capacidad de defaunación ruminal y mitigación de gases de efecto invernadero: efecto de leguminosas forrajeras arbóreas y arbustivas

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.2.1. Contextualización

Debido al crecimiento en la demanda de productos agrícolas y ganaderos, es importante buscar alternativas de producción que provoquen una reducción en la emisión de gas metano y así disminuir los efectos que provocan al ambiente negativamente (Nieto, Guzmán et al. 2014).

La Agencia de Seguridad Ambiental (que por sus siglas en inglés EPA) estima que los rumiantes producen entre 65 y 100 Tn de metano por año, los bovinos son la fuente principal, produciendo un 75 % de las emisiones. El metano producido por los bovinos se encuentra entre el 5,5 a 6,5 % de la energía que aportan los alimentos, es usada para incrementar la temperatura corporal. (Berra, Finster et al. 1999). Los bovinos tienen un complejo sistema digestivo que posee la capacidad de aprovechar y convertir material fibroso en alimentos de alta calidad nutritiva, debido a las características de este sistema digestivo produce metano, un potente gas con efecto invernadero que contribuye con aproximadamente el 18% del calentamiento de la Tierra (Carmona, Bolívar et al. 2005).

Un aspecto importante a considerar es el uso de las especies arbóreas en la alimentación animal, la presencia de metabolitos secundarios como los fenoles, compuestos fenólicos como los taninos, pueden ayudar a trasladar proteína de sobrepeso a las partes bajas del tracto gastrointestinal, lo cual puede mejorar las ganancias de peso, y en altas cantidades se puede relacionar con problemas de toxicidad, disminución en la palatabilidad, digestibilidad de algunos forrajes y efectos desfavorables en la respuesta animal (Rubio, Rodríguez et al. 2004).

Una alternativa viables para la alimentación del ganado es el uso de leguminosas forrajeras, debido a que presentan un alto contenido proteico, disminuyendo los costos de producción e incrementando la estabilidad del sistema agrosilvopastoril, disminuye así la dependencia externa de nitrógeno mediante la fijación biológica, y juegan un papel importante en la conservación de los ecosistemas agrícolas (Mendieta Lopez and Rocha Molina 2007).

Las leguminosas aportan con un forraje de alta calidad rico en proteínas y minerales para la subsistencia y la producción comercial de ganado, además proporcionan con follaje en períodos secos en que no se encuentran aportando alimento las especies herbáceas, la introducción de estas especies arbustivas de raíces profundas y resistentes a la sequía es a menudo la única opción para mejorar la alimentación del ganado en regiones áridas y semiáridas (Holmann and Lascano 2001).

1.2.2. Análisis crítico

1.2.2.1. Árbol de problemas

EFFECTOS

- Ganancia de peso reducida y prolongados tiempos de la crianza a la comercialización
- Elevados costos de producción
- Baja rentabilidad
- Aumento de emisiones de gases de efecto invernadero

PROBLEMA Limitado manejo de la alimentación en bovinos

CAUSAS

- Limitado conocimiento de las aportaciones energéticas y proteicas de los forrajes de árboles y arbustos leguminosos
- Reducida utilización de tecnologías de producción
- Gasto energético de los rumiantes
- Fermentación ruminal

1.2.3. Formulación del problema

¿Las limitadas aportaciones energéticas y proteicas de los forrajes de árboles y arbustos leguminosos en bovinos reducen la ganancia de peso y prolongan el tiempo de la crianza del animal, además incrementan la fermentación en el rumen y aumentan la producción de gas metano?

1.2.4. Preguntas directrices

¿El desconocimiento de las necesidades nutricionales de los ovinos se refleja en la baja producción de carne?

¿El limitado conocimiento de las aportaciones energéticas y proteicas de las pasturas hace que no se aprovechen otros recursos vegetales?

¿El gasto de energía por el pastoreo de los rebaños incide en la ganancia de peso?

¿El aumento de emisiones de gases de efecto invernadero por los rumiantes es causado por la alimentación baja en nutrientes adecuados?

¿El incremento de la fermentación ruminal aumenta las emisiones de gases de efecto invernadero?

1.2.5. Delimitación

1.2.5.1. Delimitación espacial

La presente investigación se realizó en la Granja Experimental Querochaca de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, cantón Cevallos Provincia de Tungurahua a una distancia 20 Km. al sur de Ambato con una altitud de 2850 m.s.n.m., cuyas coordenadas geográficas son: 01° 22' 0.2'' de latitud Sur y 78° 36' 22'' de longitud Oeste según el sistema de posicionamiento global (GPS)

1.2.5.2. Delimitación Temporal

La presente investigación se realizó desde Enero a Septiembre del 2015

1.3. JUSTIFICACIÓN

Una fuente importante de gases de efecto invernadero en el mundo es la ganadería. Se ha calculado que estos animales contribuyen entre el 7 y 18% de las emisiones totales (Gerber, Henderson et al. 2013). La práctica de la ganadería moderna consiste en incrementar la producción de carne y leche, en forma acelerada y sostenible, y de esta manera garantizar la demanda de la población, además, garantizar la conservación de los recursos del ambiente, al utilizar de forma básica insumos químicos, así reducir la contaminación y destrucción del medio natural que nos rodea. Incorporando leguminosas se presentan ventajas nutricionales, además productivas y versatilidad en componentes utilizados (Rojas Hernández, Pérez et al. 2005).

Las especies fijadoras de nitrógeno árboles y arbustos se asocian con cultivos, pastos y además su follaje puede ser cosechado bajo corte o pastoreo para la alimentación animal. Estas leguminosas contienen fibra larga, nitrógeno no proteico y proteína que son consumidos en el forraje arbóreo, estos son fermentados y utilizados como nutrimentos por la flora ruminal. Algunas proteínas como taninos o fenoles son una fuente alta de energía y proteína siempre que se logre tener un balance apropiado de nutrientes en el ecosistema ruminal, en exceso son componentes antinutricionales (Botero and Russo 1998).

Las fuentes forrajeras a partir de recursos no convencionales puede ser considerados como la base para conformar dietas de bajo costo que contribuyan a la producción pecuaria a pequeña y gran escala, siendo las dietas a base de balanceados mayores costos (Velázquez, González et al. 2011).

El efecto de los taninos puede ser beneficioso o perjudicial dependiendo del tipo de tanino, y de su estructura y peso molecular, de la especie animal que los consuma y, de modo fundamental, de la cantidad ingerida. En cantidades pequeñas mejora la utilización digestiva debido a la reducción en la degradación ruminal de la proteína y obteniendo mayor disponibilidad de aminoácidos adsorbidos los cuales se ven reflejados en el rendimiento del animal (de Frutos Fernández, Mantecón et al. 2004).

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo general

- Determinar el efecto del forraje de leguminosas arbóreas y arbustivas sobre la población de protozoarios y producción de gas *in vitro*.

1.4.2. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto del forraje de leguminosas arbóreas y arbustivas sobre la población de protozoarios ruminales, digestibilidad aparente de la MS y producción de gas *in vitro*
- Determinar la degradación ruminal *in situ* de la MS de forrajes de leguminosas arbóreas y arbustivas

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

La utilización de leguminosas como *Leucaena leucocephala* redujo el porcentaje de los gases de efecto invernadero, esta especie de leguminosa contiene taninos y saponinas que no afectaron la digestibilidad de la dieta en los animales, al contrario mejora el ambiente ruminal, además disminuye el porcentaje de las poblaciones de protozoarios en el rumen (Barros-Rodríguez, Sandoval-Castro et al. 2014).

Canavalia ensiformis es una leguminosa que tiene alto contenido nutricional. Sin embargo, contiene compuestos tóxicos que limitan su uso. Los tóxicos de canavalia tienen un efecto sobre la población de protozoarios ruminales, ya que se ha encontrado que en condiciones *in vitro*, cuando se agrega esta especie en medios de cultivos existe una muerte de protozoarios como signo indicador de su actividad (Sandoval-Castro and Herrera 2001). La *Acacia farnesiana* (L.) Willd, presentó en la semilla un 23% de proteína, y 14.9% en la cáscara, presentó además un 9,7% taninos del tipo condensado y 11,6% del tipo curtiente, contra 1,8% y 2,2% de la semilla. La presencia de taninos fue la de mayor efecto en los parámetros, la extracción de estos mejoró la asimilación del material en el rumen de los borregos (Barrientos-Ramírez, Vargas-Radillo et al. 2012).

Con el objetivo de evaluar el uso de vainas de *Acacia farnesiana* en la alimentación de ganado lanar se hizo un experimento con corderos de raza Chiapas en crecimiento, que recibieron dietas isoproteínicas con diferentes niveles de inclusión de vainas, concluyendo que la inclusión de 200 a 400 g/kg de vainas de la leguminosa en dietas para ovinos no disminuye la respuesta productiva o digestibilidad de los animales. Por su menor costo es factible utilizar este recurso regional como parte de las estrategias de alimentación del ganado lanar (Velázquez, González et al. 2011).

2.2. FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA

La presente investigación filosóficamente se fundamenta en el paradigma positivista que tiene como fundamento filosófico el positivismo que fue creado para estudiar los fenómenos en el campo de las ciencias naturales. La investigación positivista asume la existencia de una sola realidad; las cuales permiten explicar, predecir y controlar los fenómenos. En consecuencia, la finalidad de las ciencias está dirigida a descubrir esas leyes, a arribar a generalizaciones teóricas que contribuyan al enriquecimiento de un conocimiento de carácter universal, el estudio del conocimiento existente en un momento dado conduce a la formulación de nuevas hipótesis, en las cuales se interrelacionan variables, cuya medición cuantitativa, permitirá comprobarlas o refutarlas en el proceso de investigación (González 2003).

2.3. FUNDAMENTACIÓN LEGAL

En la Constitución Política de la República del Ecuador, Registro Oficial 449, del 20 de octubre del 2008. En el Título II Derechos, Sección Segunda, Ambiente Sano

Art. 14.- Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, *sumak kawsay*. Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados.

Art. 15.- El Estado promoverá, en el sector público y privado, el uso de tecnologías ambientalmente limpias y de energías alternativas no contaminantes y de bajo impacto. La soberanía energética no se alcanzará en detrimento de la soberanía alimentaria, ni afectará el derecho al agua.

En el Título VI, Régimen de Desarrollo, Principios generales, capítulo primero

Art. 277.-Para la consecución del buen vivir, serán deberes generales del Estado: Promover e impulsar la ciencia, la tecnología, las artes, los saberes

ancestrales y en general las actividades de la iniciativa creativa comunitaria, asociativa, cooperativa y privada.

Capítulo tercero Soberanía alimentaria

Art. 281: 7. Precautelar que los animales destinados a la alimentación humana estén sanos y sean criados en un entorno saludable. 8. Asegurar el desarrollo de la investigación científica y de la innovación tecnológica apropiada para garantizar la soberanía alimentaria.

Título VII, Régimen del Buen Vivir, Capítulo segundo, Naturaleza y ambiente, Sección primera

Art. 397: Establecer mecanismos efectivos de prevención y control de la contaminación ambiental, de recuperación de espacios naturales degradados y de manejo sustentable de los recursos naturales.

Ley Orgánica del Régimen de la Soberanía Alimentaria, S RO N° 583, 5 de mayo de 2009, en el Título I Principios Generales.

Artículo 2. Carácter y ámbito de aplicación.- Las disposiciones de esta Ley son de orden público, interés social y carácter integral e intersectorial. Regularán el ejercicio de los derechos del buen vivir –sumak kawsay- concernientes a la soberanía alimentaria, en sus múltiples dimensiones.

Su ámbito comprende los factores de la producción agroalimentaria; la agrobiodiversidad y semillas; la investigación y diálogo de saberes; la producción, transformación, conservación, almacenamiento, intercambio, comercialización y consumo; así como la sanidad, calidad, inocuidad y nutrición; la participación social; el ordenamiento territorial; la frontera agrícola; los recursos hídricos; el desarrollo rural y agroalimentario; la agroindustria, empleo rural y agrícola; las formas asociativas y comunitarias de los microempresarios, microempresa o micro, pequeños y medianos productores, las formas de financiamiento; y, aquéllas que defina el régimen de soberanía alimentaria.

Las normas y políticas que emanen de esta Ley garantizarán el respeto irrestricto a los derechos de la naturaleza y el manejo de los recursos naturales, en concordancia con los principios de sostenibilidad ambiental y las buenas prácticas de producción.

Con la presente investigación se da cumplimiento al Reglamento de UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO DEL CENTRO DE ESTUDIOS DE POSGRADO (CEPOS - UTA), CAPÍTULO II, DE LA ORGANIZACIÓN:

Art. 76. Previo a la realización del trabajo de investigación para Titulación o Graduación se deberá planificar el mismo mediante un Proyecto de Trabajo Investigación para Titulación o Graduación, de acuerdo con el esquema de elaboración de Proyectos de Investigación aprobado por el H. Consejo Universitario, el mismo que deberá mantener la siguiente estructura: (Res. 881-CU-P-2009, de julio 15/2009).

2.4. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES

2.4.1. Gases de efecto invernadero

La producción de metano por los rumiantes se produce de manera natural debido al proceso digestivo en estos, pero provocan una pérdida de energía y contribuye a las emisiones de gases de efecto invernadero, la metanogénesis ruminal está influenciada por varios factores, entre los que destacan: consumo de alimento, composición y digestibilidad de la dieta y procesamiento previo del alimento. Entre las estrategias para mitigar las emisiones de CH₄ que se han propuesto, la manipulación dietética-nutricional parece ser la de mayor potencial, simplicidad y factibilidad (Bonilla Cárdenas and Lemus Flores 2012).

2.4.2. Efecto de la Ganadería en el medio ambiente

La actividad ganadera generó un problema en el medio ambiente debido a los cambios en los sistemas de producción, que incrementaron el número de animales por hectárea, intensificando su producción. Se pasó de las explotaciones extensivas ligadas a la tierra a las explotaciones intensivas con poco o sin suelo disponible (Castillejos 2005).

Es importante tener en cuenta que los impactos asociados a la ganadería son tanto directos como indirectos y causan impactos ambientales, la intensidad de los impactos directos depende tanto del sistema de pastoreo como de las características de los ecosistemas en los cuales dichos sistemas son implementados. Puesto que los impactos específicos de todos estos procesos no han sido evaluados, es preciso entender que la imagen negativa de la actividad ganadera en términos ambientales se deriva de la combinación de múltiples factores y no únicamente de la ganadería en sí misma (Naranjo 2000).

Los efectos que tiene la ganadería sobre la atmósfera, están unidos a los elementos volátiles emanados durante los procesos de transformación de los forrajes y de los residuos orgánicos; el impacto de estas sustancias es diverso, mientras unos se relacionan con efectos globales sobre el planeta, otros sólo con efectos sobre el ambiente a nivel local (Varón 2011).

Las emisiones del sector ganadero provienen principalmente de dos fuentes: la fermentación entérica, donde se emite metano, y el sistema de gestión de las excretas que produce el ganado, de donde se generan metano y óxido nitroso. De acuerdo a estudios de la FAO, del IPCC, en el año 2004 el sector agropecuario contribuyó mundialmente con una proporción similar de GEI (13.5 %) al del sector transporte (13.1%). Entre 1990 y 2005, las emisiones agropecuarias en los países en desarrollo se incrementaron en un 32%, y se espera que aumenten aún más (Zúñiga-González, Pérez et al. 2012).

2.4.3. Metano en los Rumiantes

El resultado de la fermentación que sufren los alimentos en el rumen es el metano, en el proceso los animales pierden energía y el ambiente se transforma por los gases de efecto invernadero provocando el calentamiento y cambio climático global (Bonilla Cárdenas and Lemus Flores 2012). El metano se produce en los procesos de fermentación entérica o anaerobia que tienen lugar en el rumen de los animales y en el estiércol, se forma como resultado de la fermentación del alimento y la flora microbiana que reside en el aparato digestivo de los rumiantes. De esa fermentación los microorganismos adquieren la energía

que necesitan para sus principales funciones vitales, y el huésped la posibilidad de acceder a una parte de los nutrientes del alimento, que de otra forma resultarían indigestibles (De Blas, García-Rebollar et al. 2008).

La producción de CH₄ en los rumiantes está influenciada por factores como composición de la dieta, consumo de alimento, digestibilidad del alimento, procesamiento previo del alimento y frecuencia de alimentación (Bonilla Cárdenas and Lemus Flores 2012).

La producción de metano en el rumen representa una pérdidas de 2-12 % de la energía bruta consumida por el rumiante. Este proceso, además de las consecuencias para el animal, ocasiona daños al ambiente. Se estima que los microorganismos del rumen producen de 300-600 L por animal al año en el ganado adulto, lo que representa aproximadamente 80'000.000 t al año. Este gas es uno de los que más contribuyen al efecto invernadero y es responsable de 18 % del fenómeno. Los rumiantes emiten el metano a la atmósfera mediante la eructación y la cantidad liberada depende del volumen de alimentos consumidos y de la composición de la ración (Sosa, Galindo et al. 2007).

2.4.3.1. Fermentación entérica

La fermentación entérica es un proceso realizado por los herbívoros mediante el cual los microorganismos del rumen convierten los carbohidratos en moléculas más simples. Durante el proceso se produce metano en cantidades que dependen del tipo de sistema digestivo, la edad y el peso del animal, así como de la calidad y cantidad de alimento consumido (Zúñiga-González, Pérez et al. 2012).

El proceso de fermentación, que tiene lugar en el rumen, ofrece una oportunidad para que los microorganismos desdoble la celulosa, transformándola en productos que pueden ser absorbidos y utilizados por el animal. Estos organismos forman una ecología compleja, que incluye mecanismos de competición y simbiosis, su población es fuertemente influenciada por la composición de la dieta consumida por el animal. Las bacterias metanogénicas son las responsables de la producción del metano y, si

bien constituyen una fracción muy pequeña de la población microbiana total, cumplen una función muy importante, al proveer un mecanismo para eliminar el hidrógeno producido en el rumen (Berra and Finster 2002).

2.4.3.2. Microorganismos metanogénicos

La producción de metano por los microorganismos metanogénicos es parte de su metabolismo energético, y la mayoría utilizan CO₂ como su aceptor terminal de electrones en la respiración anaeróbica, convirtiéndolo a CH₄; el donador de electrones utilizado en este proceso es generalmente el H₂. Las condiciones anaerobias, la ausencia de luz y la presencia de óxido nitroso, azufre y óxido de azufre, que caracterizan la fermentación de materia orgánica (MO), conducen a la biogénesis de CH₄. El metano es producido por microorganismos pertenecientes al dominio Archaea (Bonilla Cárdenas and Lemus Flores 2012).

Los microorganismos metanogénicos utilizan diferentes sustratos para la producción de metano, pero los principales son H₂ y CO₂. La eliminación de estos gases, principalmente del H₂ implica la remoción de un factor implicado en la estabilidad del pH ruminal siendo éste esencial para una óptima fermentación (Carmona, Bolívar et al. 2005).

2.4.3.3. El Rumen

La función del rumen como una cuba de fermentación y la presencia de ciertas bacterias estimulan el desarrollo de gases. Estos gases se encuentran en la parte superior del rumen, con dióxido de carbono y metano formando la mayor porción. La proporción de estos gases depende de la ecología ruminal y el equilibrio de la fermentación. Normalmente, la proporción de dióxido de carbono es de dos a tres veces mayor que la del metano, aun cuando una gran cantidad de dióxido de carbono es reducida a metano. Aproximadamente 180 a 500 litros de gas producido por la fermentación son eructados cada día (Ishler, Heinrichs et al. 1996).

El rumen es el lugar más idóneo para conseguir minimizar estas pérdidas de N. La manipulación de la fermentación ruminal tiene un gran potencial para mejorar

la eficiencia nutricional, ya que el resto de procesos metabólicos y productivos que ocasionan pérdidas de N son necesarios y difíciles de manipular. La manipulación del manejo nutricional a nivel ruminal debe centrarse en la optimización del N, resultando en la minimización de las pérdidas ruminales de N, así como reducir las pérdidas de energía en forma de metano entérico (Castillejos 2005).

2.4.3.4. Ecología ruminal

Los microorganismos en el aparato digestivo de los rumiantes influyen profundamente en la conversión de los piensos en productos finales que pueden repercutir en el animal y en el medio ambiente. Las condiciones ambientales en las que se desarrolla el proceso de degradación de alimento, tanto las características físicas y químicas del medio como las interacciones entre distintos microorganismos determinan el grado y ritmo de la digestión del forraje (Galindo, Delgado et al. 2005).

La fermentación ruminal le permite al rumiante, utilizar alimentos que son muy fibrosos para los no rumiantes, además le confiere la habilidad de degradar la celulosa y liberando el contenido celular convirtiendo a la celulosa en un nutrimento primordial, que permitirá la síntesis de proteína microbiana de alto valor biológico a partir de proteína vegetal de bajo valor biológico, a partir de nitrógeno no proteico de la dieta y a partir del reciclaje de productos metabólicos de desecho (urea). Este provee todas las vitaminas del complejo B siempre y cuando exista la concentración adecuada de cobalto para la síntesis de vitamina B12 (Calsamiglia 2007).

2.4.3.5. pH ruminal

El pH ruminal refuerza el balance entre la capacidad amortiguadora y la acidez de la fermentación, La composición de la dieta y las prácticas de alimentación influyen sobre el pH ruminal, ya que, a medida que se incrementa la proporción de ingredientes de fermentación rápida disminuye el pH y viceversa (Kaufmann 1976).

Son varios los factores que intervienen para cambiar el pH en el rumen. La naturaleza de la dieta suministrada es factor determinante en las fluctuaciones del pH ruminal, aunque los rumiantes poseen un sistema altamente desarrollado para mantener el pH dentro de los límites fisiológicos – 6,2 a 7,0; el pH ruminal depende la presión parcial del CO₂ (Febres, Vergara-López et al. 2007).

2.4.4. Defaunación Ruminal.

Los protozoarios que se encuentran en el rumen son parte del ecosistema ruminal, y son relacionados con bacterias y hongos, en la competencia de nutrientes, la defaunación sirve como estrategia para el mejor aprovechamiento de la proteína dietética, cuando el porcentaje de protozoarios aumenta se alimenta de bacterias benéficas que degradan los alimentos y aumenta el gas emitido por el rumiante (Suarez 2015).

2.4.5. Taninos y saponinas para la reducción de gas metano

Las plantas ricas en taninos y saponinas tienen el potencial de mejorar el flujo de proteína microbiana del rumen, aumentando la eficiencia de utilización de la dieta y la disminución en la producción de gas in vitro. La acción y los efectos sobre la fermentación ruminal de los compuestos antimicrobianos dependen de su naturaleza, la actividad y la concentración en las plantas o productos vegetales (Barros-Rodríguez, Solorio-Sánchez et al. 2014). Los taninos condensados (TC) de las plantas reducen la metanogénesis ruminal mediante la disminución de la formación de hidrógeno e inhibiendo a los metanogénicos (Ortiz, Posada et al. 2014).

La suplementación con taninos (4 % de la MS) redujo la acumulación de AG saturados en sangre ($P < 0.05$), comparada con las dietas libres de taninos; lo que implica que la suplementación con taninos puede ser un estrategia útil para incrementar el ácido ruménico y el contenido de AG poliinsaturados y reducir los AG saturados en la carne de rumiantes. Sin embargo, la concentración correcta de taninos en la dieta debe ser elegida cuidadosamente para evitar efectos negativos en el consumo de MS y en el comportamiento productivo (Bonilla Cárdenas and Lemus Flores 2012).

Las saponinas, cuyo efecto anti protozoario se atribuye al enlace de las saponinas con el colesterol de la membrana celular del protozoario, causando su lisis, y dado que aproximadamente el 25 % de los metanogénicos están en simbiosis con protozoarios ciliados, la inhibición de la metanogénesis se atribuye principalmente al efecto adverso de las saponinas en los protozoarios ciliados productores de hidrógeno y en las bacterias celulolíticas, reduciendo la disponibilidad de hidrógeno para la metanogénesis y así reduciendo la fermentación producida en el rumen (Abreu, Fornaguera et al. 2003).

2.4.6. Árboles y Arbustos Leguminosos

Las Leguminosas conforman una de las mayores familias de plantas del mundo y son, al mismo tiempo, la más importante familia de árboles en los bosques, tanto en términos de diversidad de especies como de dominancia ecológica. El uso de leguminosas arbóreas para la suplementación de rumiantes, tanto en épocas de escasez como de abundancia de forrajes, ha sido tradicional en muchas zonas de las Américas. Sin embargo, a pesar de su tradición de uso y de disponer de información experimental de soporte la socialización de estas prácticas es muy reducida en las regiones donde su uso es tradicional por parte de varios productores (Navas and Restrepo 2000).

La utilización de forrajes arbóreos de leguminosas se presenta como una alternativa para la nutrición de rumiantes, debido a que posee altos niveles de nutrientes así como de compuestos secundarios, mismos que pueden ser beneficiosos al utilizarse en concentraciones moderadas. La ingestión de compuestos secundarios que posee estos forrajes puede ayudar a reducir las pérdidas de energía en forma de gases de efecto invernadero en los rumiantes (Méndez 1999).

No obstante, el consumo de leguminosas en grandes cantidades puede estar limitada debido a un exceso de nitrógeno en la dieta que causa un desequilibrio nutricional (relación proteína-energía), que afecta a la síntesis de proteína microbiana, y como consecuencia altos niveles de amoníaco en la sangre lo que puede afectar el consumo voluntario (Calsamiglia, Ferret et al. 2010).

2.4. Hipótesis

La utilización de leguminosas forrajeras arbóreas y arbustivas en la alimentación de rumiantes puede reducir la población de protozoarios ruminales y la producción de gases de efecto invernadero

2.5. Señalamiento de variables de la hipótesis

Variable independiente: Especies de árboles y arbustos leguminosos.

Variable dependiente: Función ruminal *in situ*, producción de gas *in vitro*, población de protozoarios.

CAPÍTULO III

METODOLOGIA

3.1. Modalidad de la investigación

La investigación se realizó en campo mediante la utilización de un toro canulado, además experimental, ya que se manejó diferentes tratamientos para ver su efecto sobre los parámetros de fermentación ruminal *in situ* e *in vitro*, además es cuantitativa; se analizó las cualidades de los forrajes; y todos los datos obtenidos se midieron, procesaron y ordenaron; la investigación se realizó de acuerdo al diseño experimental planteado

3.2. Nivel o tipo de investigación

Esta investigación es de tipo exploratorio explicativo ya que se evaluó el efecto de la ingestión de varias especies de árboles y arbustos leguminosos sobre las funciones del rumen, degradación *in situ*, digestibilidad *in vitro*, población de protozoarios y producción de gas *in vitro*

3.3. Operacionalización de variables

3.3.1. Variable independiente: Valor nutricional de varias especies de árboles y arbustos leguminosos

Tabla 1. Operacionalización de variable independiente.

CONCEPTUALIZACIÓN	CATEGORÍAS	INDICADOR	ÍNDICE
Evaluación nutrimental de las leguminosas arbóreas y arbustivas,	<i>Inga feuilleei</i> <i>Prosopis pallida</i> <i>Tecoma stans</i> <i>Lupinus albus</i> <i>Erythrina edulis</i> <i>Leucaena leucocephala</i> <i>Gliricidia sepium</i> <i>Cytisus monspessulanus</i> <i>Acacia melanoxylon</i> <i>Acacia farnesiana</i>	100% follaje	Gramos

3.3.2. Variable dependiente: Degradación *in situ*, producción de gas y digestibilidad *in vitro*, población de protozoarios.

Tabla 2. Operacionalización de variable dependiente.

CONCEPTUALIZACIÓN	CATEGORIAS	INDICADOR	ÍNDICE
Los estudios <i>in situ</i> e <i>in vitro</i> dan información sobre el mecanismo de acción de varias sustancias en la producción de gas metano, sus efectos comparativos y los posibles efectos <i>in vivo</i> .	Degradación Ruminal <i>in situ</i>	Cantidad de forraje degradado	% de MS degradada
	Producción de gas <i>in vitro</i>	Mililitros de gas producido	g/kg de MS fermentable
	Digestibilidad aparente <i>in vitro</i>	Cantidad de forraje digerido	% de MS digerido
	Población de protozoarios <i>in vitro</i>	Población de protozoarios	N° encontrado

3.4. PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

3.4.1. Ubicación del ensayo

La presente investigación se realizó en la Facultad de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Técnica de Ambato, ubicada en el Cantón Cevallos, Provincia de Tungurahua, a 20 Km al sur de Ambato con una altitud de 2850 m.s.n.m. cuyas coordenadas geográficas son: 01° 22' 0.2" de latitud Sur y 78° 36' 22" de longitud Oeste.

3.4.2. Caracterización del lugar

Según la Estación Meteorológica de primer orden ubicada en la Granja Experimental Docente Querochaca, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, los datos meteorológicos de los años 2005 al 2009, da a conocer que esta zona es templada, con temperatura media de 12,5°C, y precipitación anual de 600 mm, humedad relativa de 77% y velocidad de viento de 4,2 m/s.

La investigación *in vitro* se realizó en el Laboratorio de Química y la investigación *in situ* en el establo de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.

3.4.3. Metodología utilizada

Degradabilidad de la MS: se estimó siguiendo la metodología de la bolsa de nylon en el rumen descrita por Ørskov et al. (1980) utilizando un toro con una fistula en el rumen, se incubaron las bolsas, a los tiempos 0, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 72 y 96 horas, la cantidad utilizada de muestra fue de 3 gramos por bolsita y se incubaron cinco bolsitas por tratamiento.

La digestibilidad aparente de la MS *in vitro*, se estimó de acuerdo a la metodología descrita por Theodorou et al. (1994). La cual consiste en colocar en frascos de vidrio de 100 ml, 60 ml de buffer a una concentración de (70:30 v/v) 70% de saliva artificial (42 ml.) y 30% líquido ruminal (18 ml.). En cada frasco se incorporó 0.5 g de muestra a incubar (forrajes o tratamientos). Se filtró el contenido de los frascos a las 48 horas a través de papel filtro, seguido se procedió a secar en estufa a 60 °C para luego interpretar los resultados

Producción de gas *in vitro*, se estimó de acuerdo a la metodología descrita por Theodorou et al. (1994), se tomó los datos a las 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36 y 48 horas, la mezcla se preparó con: 0.5 g de muestra, 42 ml de saliva (mezcla química artificial) y 18 ml de líquido ruminal de bovino, para determinar la cantidad de gas se utilizó un transductor de presión.

Poblaciones de protozoarios ruminales *in vitro*: se prepararon los frascos según la metodología arriba descrita para producción gas. Y se determinó la presencia de protozoarios de las clases: Holotrica y Entodiniomorfa, con ayuda de una cámara Fucsh-Rosenthal Chamber y se observó al microscopio con lente de 40X de acuerdo a la metodología descrita por Ogimoto y Imai (1981), cada 0, 12, 24, 36 y 48 horas.

El contenido de metabolitos secundarios se determinó cualitativamente mediante un screening fitoquímico.

3.5. PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

3.5.1. Factores de estudio

Degradación ruminal de la MS (g/kg MS) *in vivo*, digestibilidad aparente de la MS *in vitro* (g/kg MS), protozoarios del rumen (valor), producción de gas *in vitro* (ml gas/g de materia seca fermentable).

3.5.2. Tratamientos

Porcentaje evaluado de forrajes leguminosos, arbóreos y arbustivos.

Tabla 3. Tratamientos forraje árboles y arbustos leguminosos

Tratamientos		% de evaluación
Nombre común	Nombre científico	
Guaba	<i>Inga feuilleei</i>	100
Guarango	<i>Prosopis pallida</i>	100
Cholan	<i>Tecoma stans</i>	100
Falso Chocho	<i>Lupinus albus</i>	100
Poroto	<i>Erythrina edulis</i>	100
Leucaena	<i>Leucaena leucocephalla</i>	100
Mata ratón	<i>Gliricidia sepium</i>	100
Retamo Liso	<i>Cytisus monspessulanus</i>	100
Acacia plumosa	<i>Acacia melanoxylon</i>	100
Acacia	<i>Acacia farnesiana</i>	100

3.5.3. Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar con diez tratamientos y seis repeticiones para las mediciones de pruebas *in vitro* y con diez tratamientos y cinco repeticiones para las pruebas *in vivo*.

3.5.4. Análisis estadístico

Todas las variables a estudiar se procesaron utilizando el PROC GLM del SAS (2009), la comparación de medias mediante la prueba de Tukey. La degradación ruminal de la MS se analizó con el programa Graphpad Prism 6, Software, Inc. San Diego, CA, USA

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. RESULTADOS

En la Tabla 4 se puede observar que *A. melanoxylon* y *A. farnesiana* presentaron una abundante concentración de saponinas, la *L. leucocephala* mostró una moderada presencia, mientras que los demás forrajes presentaron concentraciones leves de este metabolito. En la prueba de Alcaloides Totales los forrajes *T. stans*, *C. monspessulanus*, *E. edulis*, *L. albus* se encontraron presentes en gran cantidad, y en los forrajes *P. pallida*, *L. leucocephala*, *G. sepium* los alcaloides presentes fueron moderados, mientras que en los demás forrajes se encontraron ausentes. Las especies *I. feuilleei*, *L. leucocephala*, *A. melanoxylon* presentaron mayor cantidad de Taninos Totales, mientras que los otros forrajes estuvo en poca cantidad o ausentes. En relación a los Polifenoles Totales los forrajes *A. farnesiana*, *C. monspessulanus*, *T. stans*, *P. pallida*, *I. feuilleei* se observó presencia cuantiosa, mientras que en los demás forrajes se observó moderada y baja presencia.

Tabla 4. Screening fitoquímico de leguminosas arbóreas y arbustivas

Forrajes	Saponinas	Alcaloides Totales	Taninos Totales	Polifenoles Totales
<i>I. feuilleei</i>	+	-	+++	+++
<i>P. pallida</i>	+	+	++	+++
<i>T. stans</i>	+	+++	-	+++
<i>L. albus</i>	+	+++	-	++
<i>E. edulis</i>	+	+++	-	+
<i>L. leucocephala</i>	++	+	+++	++
<i>G. sepium</i>	+	+	-	++
<i>C. monspessulanus</i>	+	+++	-	+++
<i>A. melanoxylon</i>	+++	-	+++	++
<i>A. farnesiana</i>	+++	-	-	+++

(+++): abundante, (++): moderado, (+): bajo, (-): ausencia

Se puede observar en Tabla 5 que la digestibilidad *in vitro* de la MS mostró diferencia (P=0.0001) entre los forrajes evaluados, siendo la mayor digestibilidad en el forraje *C. monspessulanus* (67.8%) y menor para *I. feuilleei* (21.3%). La

producción de gas in vitro fue menor en *L. leucocephala* (222.6 ml/0.5 g/MSF) mostrando diferencias ($P=0.0001$) con los demás forrajes.

La población de protozoarios ruminales in vitro desde la hora 0 hasta la 24 no mostraron diferencias ($P>0.05$) entre forrajes, tanto en las poblaciones de Holotricos y Entodiniomorfos. A partir de la hora 36 los poblaciones de protozoarios Holotricos mostraron diferencias entre forrajes ($P<0.05$) siendo IF, PP, TS, LA, LL, AM, AF los de menor población de protozoarios con respecto a EE, GS y CM. Los protozoarios Entodiniomorfos no mostraron diferencias ($P>0.05$) entre forrajes en la hora 36. En la hora 48 la población de protozoarios Holotricos mostró diferencias entre forrajes ($P<0.05$) siendo IF, LL los que presentaron menos población en comparación con PP, TS, LA, EE, GS, CM, AM, AF. En protozoarios Entodiniomorfos en la hora 48 el forraje de menor población fue LL, y los demás no mostraron diferencia (Tabla 5).

La fracción soluble (A) muestra diferencias ($P<0.05$) entre los tratamientos, siendo el mayor porcentaje para *P. pallida* (51.7%). La fracción insoluble pero potencialmente degradable muestra diferencias ($P<0.05$) entre tratamientos, los mayores porcentajes de degradación fueron los forrajes *A. melanoxylon* (57.6%) *A. farnesiana* (49.9%), *L. leucocephala* (49.6%), *E. edulis* (49.4%). La *E. edulis* mostró mayor tasa de degradación (0.095%/h: $P<0.05$) en porcentaje por hora (c) que los demás tratamientos (Tabla 6).

4.2. DISCUSIÓN

En la presente investigación fueron utilizadas diez especies leguminosas entre árboles y arbustos de la zona fría y cálida de nuestro país, en donde se pudo constatar mediante el análisis fitoquímico (Tabla 4.) la presencia de compuestos secundarios como taninos, saponinas, alcaloides, que tienen un amplio rango de actividades biológicas, estas especies leguminosas son una fuente alternativa en la dieta de rumiantes, que provee al animal altos porcentajes de nutrientes, proteínas, carbohidratos, vitaminas, y minerales (Flores, Bolivar, Botero, & Ibrahim, 1998).

Tabla 5. Digestibilidad Aparente (g/kgMS), producción de gas (ml/0.5 g/MSF) y poblaciones de protozoarios ruminal *in vitro* (log₁₀).

Parámetros	Forrajes evaluados										ESM	P
	IF	PP	TS	LA	EE	LL	GS	CM	AM	AF		
DIVMS g/kgMS	213.7e	493.3bc	439.9c	500.4bc	557.7b	523.7b	533.7b	678.3a	329.5d	303.5d	14.67	0.0001
PGIV ml/0.5 g MSF	403.1a	307.5c	290.9c	335.4b	262.2d	222.6e	251.0d	254.4d	392.3a	388.4a	5.17	0.0001
Protozoarios												
Hora 0												
H	3.66a	3.79a	3.81a	3.56 ^a	3.76a	3.84a	3.50a	3.71a	3.01a	3.55a	0.217	0.2839
E	4.65ab	4.66ab	4.73a	4.2b	4.39ab	4.49ab	4.46ab	4.55ab	4.49ab	4.48ab	0.094	0.0581
Hora 12												
H	2.48a	3.08a	3.03a	3.60 ^a	3.72a	3.19a	3.86a	3.12a	3.63a	3.68a	0.479	0.6228
E	4.18a	4.50a	4.48a	4.31 ^a	4.48a	4.20a	4.60a	4.36a	4.35a	4.23a	0.122	0.2343
Hora 24												
H	3.63a	2.49a	2.98a	2.93 ^a	2.46a	2.99a	2.93a	3.50a	2.88a	1.83a	0.606	0.6736
E	4.36a	4.33a	4.41a	4.37 ^a	4.50a	4.37a	4.32a	4.50a	4.21a	4.31a	0.076	0.2300
Hora 36												
H	0.00b	0.00b	0.00b	0.00b	0.61a	0.00b	0.56a	0.56a	0.00b	0.00b	0.319	0.0369
E	4.43a	4.49a	4.45a	4.48 ^a	4.49a	4.41a	4.34a	4.43a	4.33a	4.43a	0.067	0.7575
Hora 48												
H	0.00c	0.56b	0.56b	0.56b	1.13a	0.00c	0.61b	0.61b	0.56b	0.61b	0.542	0.0484
E	3.97ba	4.41a	4.34a	4.31 ^a	4.41a	3.51b	4.05a	4.23a	4.25a	4.50a	0.237	0.0176

^{abcde} Medias con letras distintas entre filas difieren significativamente (P<0.05). **ESM**: error estándar de la media. **DIVMS**: Digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca. **PGIV**: Producción de gas *in vitro*. **MS**: Materia Seca. **H**: Holotricos, **E**: Entodiniomorfos. **IF**: *Inga feuilleei*, **PP**: *Prosopis pallida*, **TS**: *Tecoma stans*, **LA**: *Lupinus albus*, **EE**: *Erythrina edulis*, **LL**: *Leucaena leucocephala*, **GS**: *Gliricidia sepium*, **CM**: *Cytisus monspessulanus*, **AM**: *Acacia melanoxylon*, **AF**: *Acacia farnesiana*.

En rumiantes, la mezcla de diferentes concentraciones de forrajes que contienen taninos mejora la eficiencia del nitrógeno absorbido (Flores, Ibrahim, Kass, & Andrade, 1999), estos compuestos están presentes en el vegetal en diferentes concentraciones de acuerdo a cada especie y el estado fenológico en que se encuentra. De la misma manera que los taninos, las saponinas tienen incidencia en la mejor eficiencia de la utilización del alimento en rumiantes, estos aumentan el flujo de proteína microbiana hacia el duodeno mejorando la digestibilidad (Ramos, Frutos, Mantecón, & García, 1998).

La alta digestibilidad aparente de la MS en algunas especies de leguminosas se dio debido posiblemente a la baja cantidad de fibra que poseen y al estadio fisiológico de la planta (Campos Villarroel, J. A, 2003). Estos resultados son consistentes con los reportados por Barros Rodríguez et al, 2015 en su investigación quienes demostraron que los bajos valores de fibra presentes en las leguminosas incrementa la digestibilidad de los nutrientes.

Los gases de efecto invernadero se redujeron en las especies forrajeras con mayor porcentaje de digestibilidad, básicamente por la cantidad y calidad de estas leguminosas, factores que pueden variar por edad, peso y especie de animal, así como bacterias y protozoos existentes en el rumen, (Cambra-López, García Rebollar, Estelles, & Torres, 2008), la tasa de emisión de gases de efecto invernadero por fermentación ruminal se relaciona directamente con las características físico-químicas de la dieta (digestibilidad de la materia seca, y concentración de fibra insoluble), afectando al nivel de consumo y frecuencia de alimentación (Molina Botero, Cantet, Montoya, Correa Londoño, & Barahona Rosales, 2013).

Los protozoarios afectan directamente a la actividad bacteriana del rumen así como a la productividad del animal, las diversas leguminosas utilizadas debido a su efecto tóxico redujeron la concentración de estos microorganismos (De Coss, et al 2011). A través de la defaunación se logra un incremento de bacterias, relacionándose directamente con la degradación y fermentación de carbohidratos (De Coss, Cobos Peralta, Hernández Sánchez, & Guerra Medina, 2011).

Tabla 6. Degradación ruminal *in situ* (g/kgMS) de leguminosas arbóreas y arbustivas.

Forrajes	Parámetros de degradación ruminal					r^2
	T_0	A	B	C	A+B	
<i>I. feuillei</i>	367.2±12.87	353.1±7.63c	146.4±90.94d	0.009±0.0091e	499.5	0.96
<i>P. pallida</i>	571.3±5.82	517.5±6.84 ^a	268.1±7.73c	0.030±0.0029d	785.6	0.97
<i>T. stans</i>	463.5± 5.21	385.0±18.28c	435.3±17.36b	0.040±0.0050c	820.3	0.94
<i>L. albus</i>	471.4±12.54	416.6±14.09b	406.6±12.86b	0.057±0.0045b	823.2	0.97
<i>E. edulis</i>	423.9±8.09	279.5±22.06e	494.5±20.90ab	0.095±0.0069 ^a	774.0	0.97
<i>L. leucocephala</i>	395.8±35.72	291.0±17.58cd	496.8±16.23ab	0.045±0.0043c	787.8	0.96
<i>G. sepium</i>	451.2±7.62	397.0±9.52b	271.2±8.71c	0.062±0.0047b	668.2	0.97
<i>C. monspessulanus</i>	380.3± 9.86	326.1±19.80c	478.1±18.08b	0.058±0.0054b	804.2	0.96
<i>A. melanoxylon</i>	258.7±13.42	219.5±7.19f	576.7±83.71a	0.009±0.0021e	796.2	0.97
<i>A. farnesiana</i>	384.3±13.20	276.9±20.61d	499.5±19.02ab	0.045±0.0050c	776.4	0.95
Valor P		<0.05	<0.05	<0.05		

^{abcde} Medias con letras distintas entre columnas difieren significativamente (P<0.05). T_0 : tiempo cero (muestras lavadas en laboratorio). **A**: fracción soluble, **B**: fracción insoluble pero potencialmente degradable, **c**: tasa de degradación en porcentaje por hora, **A+B**: potencial de degradación.

En la tabla 6. la degradabilidad de cada leguminosa fue en función de la solubilidad de los nutrientes (A), además por la fracción insoluble que son aquellos componentes que tardan más tiempo en degradarse como las fibras (B) y la tasa de pasaje o velocidad de degradación (c) por hora, (Naranjo & Cuartas, 2011), al aumentar el total ingerido de alimentos aumenta la velocidad de tránsito digestivo y disminuye la degradabilidad de los forrajes (Abadía, 2005), se pudo observar que en los forrajes arbóreos que presentaron menor porcentaje de degradación se deba especialmente al alto grado de concentración de fibra (Lara, Canché, Magaña, Aguilar, & Sanginés, 2009).

4.3. VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS

Mediante la investigación se demostró que la utilización de árboles y arbustos leguminosos redujeron la producción de gases de efecto invernadero por gramo de materia seca fermentable, así como la reducción de la población de protozoarios, esto debido a varios componentes de las leguminosas como compuestos secundarios, que generaron menor porcentaje de producción de gas, mayor digestibilidad y degradación, verificando la hipótesis positivamente de acuerdo a los resultados obtenidos

CAPITULO 5.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Bajo las condiciones de este estudio podemos concluir que la utilización de forrajes arbóreos y arbustivos de leguminosas en la alimentación de rumiantes puede mejorar el ambiente ruminal, incrementado la digestibilidad, degradabilidad, disminución de la población de protozoarios del rumen y reducir las emisiones de gases de efecto invernadero en los rumiantes, lo que se traduce en un mejor rendimiento productivo por parte del animal.

5.2 Recomendaciones

Se recomienda incorporar especies forrajeras leguminosas por su gran contenido de metabolitos secundarios los cuales mejoran la dieta de los rumiantes, especialmente *C. monspessulanus* que obtuvo mayor porcentaje en la degradación y en la digestibilidad, además es uno de los forrajes que obtuvo menor producción de gases de efecto invernadero, de esta manera se contribuirá al mejoramiento de la nutrición del animal siendo una alternativa económicamente rentable además provoca un menor impacto ambiental.

CAPITULO 6.

PROPUESTA

6.1 Datos Informativos

Tema: Valor nutritivo del heno de *Prosopis pallida*, *Cytisus monspessulanus* en combinación con *Chenopodium albus* para la alimentación y mejoramiento de la unidad productiva en rumiantes.

6.2 Antecedentes de la propuesta

La incorporación de especies leñosas perennes como árboles y arbustos a los sistemas ganaderos es una alternativa importante para disminuir los impactos ambientales dañinos, y su potencial productivo a largo plazo reduce la dependencia de insumos tradicionales que son escasos en tiempo de sequía (Flores, Bolívar, Botero, & Ibrahim, 1998).

Una alternativa para la dieta alimenticia de rumiantes es la utilización de especies no tradicionales como las leguminosas, ya que son una gran fuente nutricional, además son digeridas con más rapidez. Los resultados del valor nutritivo, así como los contenidos y consumos de proteína indican que el heno de estas especies arbóreas presenta un potencial alimenticio apreciable para los rumiantes (Camero Rey, 2012).

No se conocen publicaciones que determinen el valor nutricional en la alimentación de los rumiantes cuando se integran leguminosas como *Caesalpinia spinosa* y *Cytisus monspessulanus* en combinación con *Chenopodium albus*.

6.3 Justificación

En vista de la importancia que está tomando estos cultivos en nuestro país podrían servir como alternativa de alimentación en la dieta de los rumiantes por su contenido nutricional y contenido de compuestos secundarios como taninos y saponinas, para mejorar la digestibilidad de los nutrientes y la reducción de la emisión de metano al ambiente.

Los procesos de digestión en los rumiantes son complejos e involucran diversas interacciones entre microorganismos y hospederos, (Rosero Noguera & Posada, 2009), para aprovechar los forrajes de mala calidad se deben satisfacer los requerimientos de energía, nitrógeno, minerales y vitaminas, por lo que el animal pierde productividad al satisfacer las deficiencias por estos alimentos (Elías, 1983).

6.4 Objetivos

- Determinar el valor nutritivo de *Prosopis pallida* y *Cytisus monspessulanus* en combinación con *Chenopodium album* en para la alimentación de rumiantes
- Determinar la degradación *in situ* de los forrajes leguminosos *Prosopis pallida* y *Cytisus monspessulanus* en combinación con *Chenopodium album* de la MS
- Evaluar el efecto del forraje de leguminosas *Prosopis pallida* y *Cytisus monspessulanus* en combinación con *Chenopodium album* sobre la población de protozoarios ruminales, digestibilidad aparente de la MS y producción de gas *in vitro*

6.5 Análisis de factibilidad

El presente proyecto es totalmente factible en la economía porque disminuye costos de producción al utilizar especies que en la mayoría de lugares no son aprovechados como alimentos, y ambiental porque gracias a los compuestos secundarios de estas especies reduce potencialmente la población de protozoarios y con esto la producción de gas metano.

6.6 Fundamentación

El heno de estas leguminosas constituyen un alimento de elevada calidad, no solo por sus contenidos de proteína, sino también de minerales, indican un buen potencial alimenticio de heno, que puede ser utilizado como suplemento de las dietas de rumiantes.

6.7 Metodología

- Digestibilidad de la MS in vitro y Producción de gas in vitro; se estimará de acuerdo a la metodología descrita por Theodorou et al.(1994)
- Degradabilidad de la MS, mediante el método de la bolsa de nylon (Ørskov et al. 1980) utilizando animales fistulas en el rumen.
- Poblaciones de protozoarios ruminales: utilizando una cámara Fusch-Rosenthalchamber de acuerdo a la metodología descrita por OgimotoyImai (1981).

6.8. Administración

La administración será realizada por la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.

6.9. Previsión de la evaluación

Se recomienda realizar la evaluación de este proyecto para que los resultados sean publicados y ayuden al beneficio de la nutrición animal, y la reducción en los costos de producción de los agricultores y ganaderos de nuestro país.

REFERENCIA

- Abadía, B. (2005). Estudio de la cinética de degradación in vitro de cuatro forrajes tropicales y una leguminosa de clima templado. *Revista Corpoica*, 6(1).
- Abreu, A., et al. (2003). "Efecto del fruto, del pericarpio y del extracto semipurificado de saponinas de *Sapindus saponaria* sobre la fermentación ruminal y la metanogénesis in vitro en un sistema RUSITEC." *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 16(2): 147-154.
- Barrientos-Ramírez, L., et al. (2012). "Evaluación de las características del fruto de huizache (*Acacia farnesiana* (L.) Willd.) para su posible uso en curtiduría o alimentación animal." *Madera y bosques* 18(3): 23-35.
- Barros-Rodríguez, M., et al. (2014). "Leucaena leucocephala in ruminant nutrition." *Tropical and subtropical agroecosystems* 17(2).
- Barros-Rodríguez, M., et al. (2014). "Effect of intake of diets containing tannins and saponins on in vitro gas production and sheep performance." *Animal Production Science* 54(9): 1486-1489.
- Barros-Rodríguez, M. A., Solorio-Sánchez, F. J., Sandoval-Castro, C. A., Klieve, A., Rojas-Herrera, R. A., Briceño-Poot, E. G., & Ku-Vera, J. C. (2015). Rumen function in vivo and in vitro in sheep fed *Leucaena leucocephala*. *Tropical animal health and production*, 47(4), 757-764.
- Berra, G. and L. Finster (2002). "Emisión de gases de efecto invernadero." IDIA XXI-INTA.
- Berra, G., et al. (1999). "Reducción de emisiones de metano provenientes del Ganado bovino." Ministerio de Desarrollo Social y Medio Ambiente. Secretaría de Desarrollo Sustentable y Política Ambiental. Argentina.
- Bonilla Cárdenas, J. A. and C. Lemus Flores (2012). "Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático: Revisión." *Revista mexicana de ciencias pecuarias* 3(2): 215-246.

- Bonilla Cárdenas, J. A. and C. Lemus Flores (2012). "Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático: Revisión." *Revista mexicana de ciencias pecuarias* **3**: 215-246.
- Botero, R. and R. O. Russo (1998). "Utilización de árboles y arbustos fijadores de nitrógeno en sistemas sostenibles de producción animal en suelos ácidos tropicales." «Agroforestería para la producción animal en Latinoamérica».
- Calsamiglia, S. (2007). Nuevas bases para la utilización de la fibra en dietas para rumiantes. 1997 XV Curso de Especialización Avances en Nutrición y Alimentación Animal, FEDNA.
- Calsamiglia, S., et al. (2010). "Strategies for optimizing nitrogen use by ruminants." *Animal* **4**(07): 1184-1196.
- Cambra-López, M., García Rebollar, P., Estelles, F., & Torres, A. (2008). Estimación de las emisiones de los rumiantes en España: El Factor de Conversión de Metano. *Archivos de zootecnia*, 57(sR).
- Camero Rey, L. A. (2012). Experiencias del CATIE sobre el uso de follaje de leguminosas arbóreas en la producción de carne y leche de bovinos. *Pastos y Forrajes*, 18(1).
- Campos Villarroel, J. A. (2003). Digestibility of legumes and grassy forages in guinea pig feeding.
- Carmona, J. C., et al. (2005). "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* **18**(1): 49-63.
- Castillejos, L. (2005). Modificación de la fermentación microbiana ruminal mediante compuestos de aceites esenciales, Tesis Ph. D. Universidad

Autónoma de Barcelona. Depto. de Ciencia Animal y de los Alimentos.
Barcelona, España.

De Blas, C., et al. (2008). "Contribución de los rumiantes a las emisiones de gases con efecto invernadero." XXIV Curso de especialización FEDNA. Editorial FEDNA. Madrid: 121-150.

De Coss, A., Cobos Peralta, M., Hernández Sánchez, D., & Guerra Medina, E. (2011). Formulación de un medio de cultivo anaerobio para protozoarios ruminales y evaluación in vitro en la capacidad desfaunante del extracto de plantas. *Revista Científica*, 21(001).

De Coss, A. L., Tinajero, J. J. M., Agreda, F. J. M., Castillo, C. G. G., Valdez, O. D. M., & Medina, E. G. (2011). La capacidad desfaunante del extracto de plantas en el rumen. *Revista Científica*, 21(5), 414-420.

De Frutos Fernández, P., et al. (2004). "Tannins and ruminant nutrition: Review." Spanish journal of agricultural research(2): 191-202.

Febres, O. A., et al. (2007). "Propiedades físicas y químicas del rumen." Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal **15**(S1): 133-140.

Flores, O., Bolivar, D. M., Botero, J., & Ibrahim, M. (1998). Parámetros nutricionales de algunas arbóreas leguminosas y no leguminosas con potencial forrajero para la suplementación de rumiantes en el trópico. *Livestock research for rural Development*, 10(1), 1-10.

Flores, O., Ibrahim, M., Kass, D., & Andrade, H. (1999). El efecto de los taninos de especies leñosas forrajeras sobre la utilización de nitrógeno por bovinos. *Agroforestería en las Américas*, 6(23), 42-44.

Galindo, J., et al. (2005). "Impacto de los árboles, arbustos y otras leguminosas en la ecología ruminal de animales que consumen dietas fibrosas." *Pastos y Forrajes* **28**(1).

Gerber, P. J., et al. (2013). Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production. A review of technical options for non-CO2 emissions, FAO.

- González, A. (2003). "Los paradigmas de investigación en las ciencias sociales." *Islas* **45**(138): 125-135.
- Holmann, F. and C. Lascano (2001). *Sistemas de alimentación con leguminosas para instensificar fincas lecheras*, CIAT.
- Ishler, V. A., et al. (1996). *From feed to milk: understanding rumen function*, Pennsylvania State University.
- Kaufmann, W. (1976). "Influence of the composition of the ration and the feeding frequency on pH-regulation in the rumen and on feed in-take in ruminants." *Livestock Production Science* **3**(2): 103-114.
- Méndez, M. R. (1999). "Mezclas de forrajes: Uso de la diversidad forrajera tropical en sistemas agroforestales." *Fao Animal Production and Health Paper*: 201-230.
- Mendieta Lopez, M. and L. Rocha Molina (2007). "Sistemas agroforestales."
- Naranjo, L. G. (2000). *Sistemas agroforestales para la producción pecuaria y la conservación de la biodiversidad. Potencialidades de los sistemas silvopastoriles para la generación de servicios ambientales (LEAD-PFI-ECONF-L)(conferencia electrónica)*. Disponible en <http://lead.virtualcentre.org/es/ele/conferencia2/vbconfe18.htm>.
- Naranjo, J. F., & Cuartas, C. A. (2011). Caracterización nutricional y de la cinética de degradación ruminal de algunos de los recursos forrajeros con potencial para la suplementación de rumiantes en el trópico alto de Colombia. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, *6*(1), 9-19.
- Navas, C. and C. Restrepo (2000). *Frutos de leguminosas arbóreas: una alternativa nutricional para ganaderías en el trópico*.
- Nieto, M. I., et al. (2014). "Emisiones de gases de efecto invernadero: simulación de un sistema ganadero de carne típico de la región central Argentina." *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias* **40**: 92-101.

- Ortiz, D., et al. (2014). "Efecto de metabolitos secundarios de las plantas sobre la emisión entérica de metano en rumiantes."
- Quesada, J. L. D. and A. E. d. N. y Certificación (2009). Huella ecológica y desarrollo sostenible, Asociación española de normalización y certificación ed.
- Ramos, G., Frutos, P., Mantecón, Á. R., & García, F. J. G. (1998). Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros. *Archivos de zootecnia*, 47(180), 1.
- Rojas Hernández, S., et al. (2005). "Manejo de praderas asociadas de gramíneas y leguminosas para pastoreo en el trópico." *Revista Electrónica de Veterinaria RED-VET* 6(5): 1695-7504.
- Rosero Noguera, R., & Posada, S. L. (2009). Modelación de la cinética de degradación de alimentos para rumiantes. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias (Colombian journal of animal science and veterinary medicine)*, 20(2), 174-182.
- Rubio, E., et al. (2004). "Evaluación del potencial forrajero de árboles y arbustos tropicales para la alimentación de ovinos." *Téc Pecu Méx* 42(2): 129-144.
- Sandoval-Castro, C. A. and F. Herrera (2001). "Cambios en la población de protozoarios ruminales por efecto de la inclusión de *Canavalia ensiformis* a la dieta de bovinos." *Rev. bioméd.(México)* 12(3): 166-171.
- Saro Higuera, C. (2013). "Estructura de las comunidades microbianas ruminales de ovejas alimentadas con diferentes dietas."
- Sosa, A., et al. (2007). "Metanogénesis ruminal: aspectos generales y manipulación para su control." *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 41(2): 105-114.
- Suarez, A. (2015). "Defaunación en bovinos: Breve discusión." *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias (Colombian journal of animal science and veterinary medicine)* 10(2): 104-107.

- Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, A. B., & France, J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal feed science and technology*, 48(3), 185-197.
- Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional ecology of the ruminant*: Cornell University Press.
- Varón, L. E. S. (2011). "Las dietas en las emisiones de metano durante el proceso de rumia en sistemas de producción bovina." *RIAA* 2(1): 55-64.
- Velázquez, A., et al. (2011). "Producción, digestibilidad y rentabilidad en corderos de dietas con vainas de *Acacia farnesiana*." *Archivos de zootecnia* 60(231): 479-488.
- Zúñiga-González, N., et al. (2012). La Ganadería Y La Emisión De Gases De Efecto Invernadero (Gei): Un Nuevo Paradigma A Considerar. 13er. Congreso Nacional de Investigación Socioeconómica y Ambiental de la Producción Pecuaria.