



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE POSGRADO Y FORMACIÓN CONTINUA

INFORME DE INVESTIGACIÓN

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGÍSTER EN ZOOTECNIA MENCIÓN
PRODUCCIÓN ANIMAL**

MODALIDAD:

TRABAJO DE TITULACIÓN

TEMA:

**INCLUSIÓN DE ACACIA (*Acacia mearnsii*) EN DIETAS Y
EFECTO EN LA FUNCIÓN RUMINAL Y PRODUCCIÓN DE CH₄ Y
CO₂**

AUTOR:

Dr. MVZ JEFFERSON RAÚL VARAS AGUILLÓN

TUTOR:

ING. LEOPOLDO ANDRÉS VITERI VELASCO, M.Sc,

COTUTOR:

ING. MARCOS BARROS RODRÍGUEZ, PhD

CALCETA, ENERO 2020

DERECHOS DE AUTORÍA

Jefferson Raúl Varas Aguillón, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, que se han respetado los derechos de autor de terceros, por lo que asumo la responsabilidad sobre el contenido del mismo, así como ante la reclamación de terceros, conforme a los artículos 4, 5 y 6 de la Ley de Propiedad Intelectual.

A través de la presente declaración cedo los derechos de prioridad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su reglamento.

Dr. MVZ JEFFERSON RAÚL VARAS AGUILLÓN

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

Ing. LEOPOLDO ANDRÉS VITERI VELASCO, Mg, certifica haber tutelado el trabajo de titulación **INCLUSIÓN DE ACACIA (*Acacia mearnsii*) EN DIETAS Y EFECTO EN LA FUNCIÓN RUMINAL Y PRODUCCIÓN DE CH₄ Y CO₂** que ha sido desarrollado por **JEFFERSON RAUL VARAS AGUILLON**, previa la obtención del título de Magíster en Zootécnia Mención Producción Animal, de acuerdo al **Reglamento de unidad de titulación de los programas de posgrado** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Féliz López.

Ing. LEOPOLDO ANDRÉS VITERI VELASCO, Mg

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **INCLUSIÓN DE ACACIA (*Acacia mearnsii*) EN DIETAS Y EFECTO EN LA FUNCIÓN RUMINAL Y PRODUCCIÓN DE CH₄ Y CO₂** que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por **JEFFERSON RAUL VARAS AGUILLON**, previa la obtención del título de Magíster en Zootécnia Mención Producción Animal, de acuerdo al **Reglamento de unidad de titulación de los programas de posgrado** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

DR. C. EDIS MACÍAS RODRÍGUEZ
MIEMBRO

MG. CARLOS LARREA IZURIETA
MIEMBRO

DR. C. ALEX ROCA CEDEÑO
PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A Dios por permitirme llegar a este momento importante de mi carrera.

A mis Padres y hermanos que pese a no estar juntos siempre en todo momento han brindado su apoyo para seguir en la lucha.

Al Ing. Wilson Wong y al Dr. Javier Villalba, ex Directores de Agrocalidad Guayas quienes siempre me brindaron su apoyo y me permitieron avanzar.

A mis profesores durante todo el tiempo de clases por su paciencia y en muchos casos sapiencia al momento de compartir las experiencias, de igual manera al personal administrativo y de apoyo en la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí ESPAM MFL.

A un gran colega Dr. Marcos Barros por brindarme su apoyo en todo el tiempo y por ofrecerme incondicionalmente las instalaciones del laboratorio de Ruminología de la UTA para desarrollar las prácticas.

A mi colega y gran amigo Dr. Néstor Acosta por su apoyo incondicional durante las primeras etapas de desarrollo de mi tesis.

A un gran ser humano el Dr. Ernesto Hurtado a quien le debo mucho en el transcurso de esta etapa que por sus consejos y ánimos me han permitido avanzar hasta la culminación de esta investigación.

A mis compañeros de clases a quienes siempre tendré presente pese a los altos y bajos en la corta estancia en Manabí.

A los miembros del tribunal a quienes les agradezco mucho por sus comentarios, al Profesor Alex Roca por su confianza en este humilde servidor y por sus consejos oportunos en todo momento para el desarrollo de este trabajo.

A todos los que han sido parte de esta etapa en Calceta muchísimas gracias.

JEFFERSON RAÚL VARAS AGUILLÓN

DEDICATORIA

A Dios Padre Todopoderoso por ser la fuerza interna más bella de mi vida.

A mi Madre Irene Aguillón Meza y mi única abuela viva Hilda Meza Viteri por ser mujeres de ejemplo para mí.

A mi Padre Eduardo Varas Gómez que ha estado incondicionalmente conmigo pese a estar lejos.

A mis hermanos quienes son mi sangre y estamos para darnos fuerte apoyo.

A mis abuelos (+) Eduardo Varas Hernández y Luis Aguillón Morales, mi abuela (+) Olimpia Gómez Canales y mi tía Italia Aguillón Meza quienes desde el lecho eterno están cuidándome en todo momento.

A todos en mi familia, cercanos y lejanos.

Al amor en sentido general por hacer en mí que sea alguien entregado a lo que amo Mi Profesión.

JEFFERSON RAÚL VARAS AGUILLÓN

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA	II
CERTIFICACIÓN DE TUTOR	III
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	IV
AGRADECIMIENTO	V
DEDICATORIA	VI
CONTENIDO GENERAL	VII
CONTENIDO DE TABLAS Y FIGURAS	X
RESUMEN	XI
PALABRAS CLAVE	XI
ABSTRACT	XII
KEYWORDS	XII
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	4
1.3. OBJETIVOS.....	5
1.4. HIPÓTESIS, PREMISAS Y/O IDEAS A DEFENDER.....	5
CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	6
2.1. LOS SISTEMAS SILVOPASTORILES EN LA ALIMENTACIÓN DEL GANADO BOVINO.....	6
2.1.1. EFECTOS DE LA GANADERIA EN EL MEDIO AMBIENTE.....	6
2.1.2. LA GANADERIA COMO ALTERNATIVA ECOLOGICAMENTE SOSTENIBLE.....	7
2.2. GENERALIDADES DE LA ACACIA (<i>Acacia mearnsii</i>).....	8
2.2.1. EMPLEO DE ACACIA (<i>Acacia mearnsii</i>) EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL.....	9
2.2.2. FACTORES NUTRICIONALES Y ANTINUTRICIONALES DE ACACCIA (<i>Acacia mearnsii</i>) EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL.....	10
2.3. VALORACIÓN NUTRICIONAL DE FORRAJES.....	10
2.4. DETERMINACIÓN DE DIGESTIBILIDAD DE ALIMENTOS.....	11
2.5. METODOS PARA DETERMINAR DIGESTIBILIDAD EN ALIMENTOS.....	11
2.5.1. DIGESTIBILIDAD <i>IN VIVO</i>	11
2.5.2. DIGESTIBILIDAD <i>IN SITU</i>	12

2.5.3. DIGESTIBILIDAD <i>IN VITRO</i>	12
2.5.4. TÉCNICA DE PRODUCCIÓN DE GASES.....	12
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLOGICO	13
3.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO	13
3.2. CONDICIONES CLIMÁTICAS.....	13
3.3. DURACIÓN DEL TRABAJO.....	13
3.4. FACTOR DE ESTUDIO.....	13
3.5. TRATAMIENTOS	13
3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	14
3.7. UNIDAD EXPERIMENTAL.....	14
3.7.1. EXPERIMENTO 1: CINETICA DE LA DEGRADABILIDAD DE LA MS Y MO DE DIETAS CON ACACIA (<i>Acacia mearnsii</i>).....	14
3.7.2. EXPERIMENTO 2: PRODUCCIÓN DE GASES (CH ₄ , CO ₂), pH RUMINAL Y DIGESTIBILIDAD <i>IN VITRO</i>	15
3.8. VARIABLES MEDIDAS	15
3.8.1. VARIABLE INDEPENDIENTE	15
3.8.2. VARIABLES DEPENDIENTES.....	15
3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	15
3.10. MANEJO DEL EXPERIMENTO	16
3.10.1. ANIMALES, ALOJAMIENTO Y ALIMENTACIÓN.....	16
3.10.2. PREPARACIÓN DE LAS DIETAS.....	16
3.10.3. PRUEBA DE DEGRADABILIDAD RUMINAL DE LA MS Y MO	16
3.10.4. PRODUCCIÓN DE GASES (NH ₄ , CO ₂) Y DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i> ..	17
3.11. METODOLOGÍA.....	18
3.11.1. EXPERIMENTO 1: CINETICA DE LA DEGRADABILIDAD DE LA MS Y MO DE DIETAS CON ACACIA (<i>Acacia mearnsii</i>).....	18
3.11.2. EXPERIMENTO 2: PRODUCCIÓN DE GASES (CH ₄ , CO ₂), pH RUMINAL Y DIGESTIBILIDAD <i>IN VITRO</i>	18
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
4.1 DIGESTIBILIDAD DE LA MS, MO Y PH RUMINAL	20
4.2 CINÉTICA DE DEGRADACIÓN RUMINAL <i>IN SITU</i> DE MS Y MO.....	21
4.3 CINÉTICA DE PRODUCCIÓN DE GAS, METANO Y CO ₂	23
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	26
5.1 CONCLUSIONES.....	26

5.2 RECOMENDACIONES	26
BIBLIOGRAFÍA	27
ANEXOS	32

CONTENIDO DE TABLAS, FIGURAS Y ANEXOS

Tabla 2.1. Descripción taxonómica del género <i>Acacia</i>	9
Tabla 3.1.1. Condiciones climáticas	14
Tabla 3.4.1. Tratamientos ensayados de muestras homogéneas de dietas con <i>Acacia mearnsii</i>	14
Tabla 3.5 Fuente de variación de los datos	14
Tabla 4.1 Digestibilidad de MS y MO de dietas con diferentes niveles de inclusión de <i>Acacia mearnsii</i>	20
Tabla 4.2. Efecto de dietas con <i>Acacia mearnsii</i> sobre el pH ruminal	21
Tabla 4.3. Degradabilidad ruminal <i>in situ</i> de MS y MO de dietas con niveles crecientes de <i>Acacia mearnsii</i>	22
Tabla 4.4. Cinética de producción de gases, Metano y dióxido de carbono CO ₂ (mL/0.500g/MS Fermentable)	24
Figura 4.1. Cinética de la degradación ruminal de MS (A) y la MO (B) de dietas con niveles crecientes de <i>Acacia mearnsii</i>	22
Anexo 1. Bovinos mestizos fistulados para la investigación	32
Anexo 2. Dietas para bovinos	33
Anexo 3. Proceso de deshidratación de plantas	34
Anexo 4. Saliva artificial	35
Anexo 5. Lavado de bolsas post incubación ruminal	36
Anexo 6. Frascos con preparación de saliva e inóculo ruminal para técnica de producción de gases	37
Anexo 7. Muestras para determinación de MS post incubación en rumen	38

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la inclusión de *Acacia mearnsii* en dietas para bovinos se aplicó un diseño completamente al azar utilizando cuatro tratamientos y seis repeticiones con distintos niveles de inclusión de *A. mearnsii* (T1: *Medicago sativa* 50%, *Lolium perenne* 50%; T2: *Medicago sativa* 40%, *Lolium perenne* 40%, *Acacia mearnsii* 20%; T3: *Medicago sativa* 30%, *Lolium perenne* 30%, *Acacia mearnsii* 40% y T4: *Medicago sativa* 20%, *Lolium perenne* 20%, *Acacia mearnsii* 60%) se utilizó seis toretes mestizos canulados de dos años de edad con peso promedio de 350 kilos. Se realizó prueba de degradabilidad de la MS y MO mediante la técnica de bolsa de nylon y digestibilidad *in vitro*. La digestibilidad fue mayor ($P < 0.0001$) en los tratamientos 1 y 2, la degradabilidad ruminal en la fracción soluble (a), potencial de degradación (a+b) y degradación efectiva fue mayor ($P < 0.05$) en T1, la fracción insoluble pero potencialmente degradable (b) y la tasa de degradación en porcentaje por hora (c) no mostraron diferencias entre los tratamientos evaluados ($P > 0.05$), el pH ruminal no mostró diferencias ($P > 0.05$) entre tratamientos, la producción de gas metano fue menor en el T2 con una diferencia de 48.4 mLmetano/0.500mg de MS fermentable respecto al T4. La menor producción de dióxido de carbono se observó en los tratamientos T1 y T2 ($P < 0.0063$) con una diferencia de 236 mL CO₂/0.500mg de MS fermentable respecto al T4. Se concluye que la inclusión de *A. mearnsii* influye positivamente en la función ruminal y reduce la producción de gases en el rumen.

PALABRAS CLAVE

Degradabilidad ruminal, degradación efectiva, digestibilidad, fermentabilidad, gases efecto invernadero.

ABSTRACT

The effect of the inclusion of *Acacia mearnsii* in bovine diets in a completely randomized design was evaluated using four treatments and six repetitions with different levels of inclusion of *A. mearnsii* (T1: *Medicago sativa* 50%, *Lolium perenniale* 50%; T2: *Medicago sativa* 40%, *Lolium perenniale* 40%, *Acacia mearnsii* 20%; T3: *Medicago sativa* 30%, *Lolium perenniale* 30%, *Acacia mearnsii* 40% and T4: *Medicago sativa* 20%, *Lolium perenniale* 20%, *Acacia mearnsii* 60%) it was used six two-year-old cannulated mestizo bulls with an average weight of 350 kilos. Degradability test of the MS and MO was performed using the nylon bag technique and in vitro digestibility. Digestibility was higher ($P < 0.0001$) in treatments 1 and 2, ruminal degradability in the soluble fraction (a), degradation potential (a + b) and effective degradation was greater ($P < 0.05$) in T1, the fraction insoluble but potentially degradable (b) and the degradation rate in% per hour (c) showed no differences between the evaluated treatments ($P > 0.05$), the ruminal pH, there were no differences ($P > 0.05$) between treatments, the production of Methane gas was lower in T2 with a difference of 48.4 mL methane / 0.500mg of Fermentable MS compared to T4. The lowest production of carbon dioxide was observed in treatments T1 and T2 ($P < 0.0063$) with a difference of 236 mL CO₂ / 0.500mg of Fermentable MS compared to T4. It is concluded that the inclusion of *A. mearnsii* positively influences ruminal function and reduces the production of rumen gases.

KEYWORDS

Ruminal degradability, effective degradation, digestibility, fermentability, greenhouse gases.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

El estudio de la utilización de alternativas de alimentación como el empleo de *Acacia mearnsii* en dietas para ganado bovino, nos permite avanzar a pasos agigantados en la obtención de proteína de origen animal (carne, leche) debido a que esta planta goza de atributos propios de su crianza y calidad de sus productos para la alimentación de rumiantes.

Los sistemas tradicionales de producción animal bajo nuestras condiciones, tienden a disminuir debido al poco conocimiento sobre los sistemas de producción y manejo de pastos lo que provoca degradación del suelo rápidamente debido al sobrepastoreo y de esta manera impactos ambientales, sociales y económicos negativos (Choez, 2017). Sin embargo, existen posibles alternativas de alimentación que pueden mejorar la condición de la ganadería a baja y mediana escala.

En la provincia de Tungurahua, debido a sus características geográficas y por las costumbres ancestrales, ha mantenido la crianza de bovinos y ovejas bajo sistemas extensivos (libre pastoreo). Esto va ligado a que este tipo de ganadería representa un medio de subsistencia para los pequeños y medianos productores los cuales se ven limitados debido a que no se cuenta con alimentación que tenga como base pastos y forrajes de buena calidad que cubran con los requerimientos nutricionales para mejorar la producción de carne y leche en la zona (Acosta, 2016).

En el mundo actual, debido a la alta demanda de consumo de carne y leche se ha optado por probar nuevas alternativas de alimentación que representen métodos y esquemas de manejo tradicional sin dañar el medio ambiente, dentro de ellas están la asociación de especies arbóreas y/o arbustivas como: *Brachiaria brizantha*, *Setaria ssp*, *Gliricidia ssp*, *Flemingia macrophylla*, *Leucaena leucocephala*, *Tithonia diversifolia*, *Moringa oleifera*, *Acacia mearnsii* entre otras que permitan mejorar el comportamiento productivo y reproductivo en

los animales logrando mayor producción en un menor tiempo de crianza (García *et al.*, 2006).

Por otro lado en el trópico, la alimentación de rumiantes es basada primordialmente en el pastoreo de gramíneas, pero estas no abastecen por completo los requerimientos de los animales principalmente en época seca y es por ello necesario la asociación con especies forrajeras que tengan gran potencial por su calidad y disponibilidad de nutrientes en todas las épocas del año por la capacidad de rebrotar y ofrecer biomasa de buena calidad (Pezo, 1981).

De la misma manera, estas especies tienen gran potencial para mejorar los sistemas de producción animal por su alto rendimiento de forraje, pueden tolerar mejor el mal manejo y tienen capacidad de rebrotar y ofrecer forraje de buena calidad en localidades de sequía prolongada (Zambrano, 2016). La mayoría de estas especies son de fácil propagación y no requieren de tecnología avanzada, ni de gran cantidad de insumos externos.

Dentro de las principales alternativas de alimentación en los rumiantes se ha podido evidenciar: pastos y forrajes (Oliva *et al.*, 2018) y subproductos (Contino *et al.*, 2017) entre otras; Sin embargo, se ha visto la necesidad de nuevas alternativas forrajeras que pueden aportar con nutrientes y que gracias a sus bondades de crecimiento y producción de biomasa, contribuirían a reemplazar en cierto grado a la alimentación común reduciendo de esta forma los costos de alimentación en los sistemas de producción con rumiantes (García *et al.*, 2006).

La *Acacia mearnsii*, es una planta con características forrajeras para la alimentación animal, dentro de las cuales se ha podido determinar que la inclusión de diferentes niveles en las dietas integrales para monogástricos y rumiantes, ha permitido obtener buenos resultados en el comportamiento productivo (Savón *et al.*, 2005).

En virtud de lo antes mencionado se formulan las siguientes preguntas:

¿Cuáles serán los efectos fisiológicos de la inclusión de *Acacia mearnsii* en la alimentación de bovinos?

¿Cuál será el efecto de la inclusión de *Acacia mearnsii* sobre la función ruminal (digestibilidad, cinética de la degradabilidad de materia orgánica (MO) y materia seca (MS), pH y producción de metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂) en bovinos?

1.2. JUSTIFICACIÓN

En el Ecuador la producción ganadera se basa en la alimentación de pastos nativos y en muchos casos sin un esquema definido para la cosecha de las plantas para la alimentación de los rumiantes, la producción de pastizales esta expuesta a lluvias y sequías por lo que, en épocas donde el agua es escasa el rendimiento de la biomasa es limitada disminuyendo el desempeño productivo de los animales y por ende el ingreso económico de los pequeños productores (Solís, 2017).

En la actualidad la demanda de producción de forrajes para la alimentación del ganado en nuestro país, abre la oportunidad para la implementación de nuevas técnicas para mejorar la disponibilidad de biomasa mediante la utilización de especies arbóreas que aportan con nutrientes y otros componentes que ayudan a mejorar la respuesta fisiológica en los rumiantes (Fuentes *et al.*, 2001).

Una estrategia para incrementar la disponibilidad y calidad de los alimentos para rumiantes puede ser a través de la utilización de árboles y arbustos forrajeros, que por lo general presentan alto contenido de nitrógeno siendo una alternativa de alimentación por sus altos niveles de proteína en la dieta.

Los resultados de la investigación contribuirán a fomentar el desarrollo de la ganadería climáticamente amigable con el ambiente, basado en los principios de sostenibilidad económica, social y ecológica. Igualmente, permitirá fomentar cambios significativos pues optimizará el uso y manejo de los recursos naturales, particularmente suelo y agua; dando como resultado, mejorar el nivel de vida de todos los involucrados en la cadena agroproductiva.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la inclusión de *Acacia mearnsii* sobre la digestibilidad, cinética de degradabilidad ruminal, pH y producción de CH₄ y CO₂.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar el efecto de la incorporación de *Acacia mearnsii* sobre la digestibilidad aparente de MS y MO de las dietas en bovinos.

Estimar la cinética de degradación de la MS, MO y el pH ruminal.

Evaluar el efecto de la inclusión de *Acacia mearnsii* en la dieta de bovinos sobre la producción de CH₄ y CO₂.

1.4. HIPÓTESIS, PREMISAS Y/O IDEAS A DEFENDER

La incorporación de *Acacia mearnsii* mejora la función ruminal en bovinos y la digestibilidad aparente de nutrientes, la cinética de degradabilidad ruminal de la MS y MO disminuyendo la producción de CH₄ y CO₂.

CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. LOS SISTEMAS SILVOPASTORILES EN LA ALIMENTACIÓN DEL GANADO BOVINO

Los sistemas silvopastoriles, combinan árboles o arbustos con herbáceas (pastos), generando una simbiosis en el ecosistema donde se desarrollan logrando acciones importantes en la mitigación de impactos negativos de las actividades agropecuarias (López et al., 2017), promueven el desarrollo sostenible de las regiones ganaderas rurales, pues su implementación resulta en una serie de beneficios que propician la creación de microclimas que favorecen el desarrollo de mayor biodiversidad (Ibrahim et al., 2006; González, 2017).

Los sistemas silvopastoriles, se han convertido en una alternativa sostenible para la producción ganadera con varias especies arbóreas nativas como *Eritryna edulis* (Pajuro), *Alnus acuminata* (Aliso) y *Salix babylonica* (Sauce), *Lolium multiflorum* (Rye grass), *Trifolium repens* (Trébol), *Acacia mearnsii* (Zarzo negro), entre otras (Murgueitio et. al., 2014).

2.1.1. EFECTOS DE LA GANADERIA EN EL MEDIO AMBIENTE

Existen diferentes criterios sobre la ganadería y su efecto sobre el medio ambiente. En los países del primer mundo, los sistemas de producción a gran escala tienen efectos adversos sobre el medio ambiente debido a las características que la especie bovina producto de su metabolismo ruminal lo que acarrea criterios nocivos para la especie considerándola como una de las mas altas contaminantes (Salazar, 2005; Chacha, 2018).

Coma *et al.* (2004) Describieron a la ganadería como un sistema de producción que en ciertas áreas geográficas donde existe alta concentración de animales es motivo de preocupación debido a la cantidad de contaminantes que se generan, en donde la legislación ambiental ha tomado diferentes rumbos sobre el ejercicio para reducir el efecto contaminante y se plantean nuevas alternativas de manejo para reducir el impacto ambiental.

A pesar de los avances en la ciencia del manejo y la nutrición de rumiantes gracias a las nuevas tecnologías utilizadas en el procesamiento y elaboración de alimentos aún existen vacíos por descubrir para evitar el desperdicio de

productos del metabolismo animal considerados nocivos para el ambiente que son eliminados a través de la orina y heces (Dumont y Carlos, 2000; Degre *et al.*, 2001).

Según la FAO (2017) uno de los impactos ambientales provocados por el sector agropecuario es la emisión de gases de efecto invernadero (GEI) siendo los más investigados el dióxido de carbono (CO₂), óxido nitroso (N₂O) y metano (CH₄) quienes han elevado su concentración en el siglo XX catalogando el sector ganadero como un gran emisor de GEI.

Costantini *et al.* (2018) manifiesta que la mayor contribución de N₂O se produce a partir de las excretas animales, principalmente las líquidas, mientras que el CH₄, se produce principalmente por fermentación entérica, siendo esta última la emisión de mayor significación en sistemas pecuarios.

La ganadería representa un eslabón importante de la cadena primaria de alimentos por lo que las nuevas técnicas y métodos de manejo de los rumiantes para evitar el efecto nocivo de la contaminación producto del metabolismo representa un reto para los profesionales de la nutrición animal en el tiempo (Kim *et al.*, 2012).

2.1.2. LA GANADERIA COMO ALTERNATIVA ECOLOGICAMENTE SOSTENIBLE

La ganadería en los últimos diez años, ha sido vista como una solución factible con enfoque de sostenibilidad ya que contribuye con la seguridad alimentaria generando productos alimenticios, empleos e ingresos; sin embargo, también ha sido catalogada como negativa debido a los impactos en el ambiente, como lo son la compactación del suelo, detrimento de la biodiversidad, deforestación, contaminación de fuentes hídricas y emisión de gases de efecto invernadero, que contribuyen al cambio climático (Torres *et al.*, 2018).

García *et al.* (2015) desarrolló una metodología la valoración económica de la conservación de las razas ganaderas fundamentada en la utilización de la teoría de las preferencias individuales y de los valores de uso de dichas poblaciones animales concluyendo que las especies autóctonas contribuyen de una manera

positiva al mejoramiento de las condiciones ambientales a futuro generando ingresos positivos para los pequeños productores.

La ganadería representa una parte de la producción ecológicamente inteligente utilizando esquemas ordenados y armónicos en la interacción planta suelo animal logrando beneficios positivos a largo plazo para el planeta.

2.2. GENERALIDADES DE LA ACACIA (*Acacia mearnsii*)

La *Acacia mearnsii* es un árbol pequeño que mide aproximadamente de 7 a 10 metros de altura, de forma cónica y ramas que llegan al suelo de forma angular oscurecidas y de aspecto áspero en el tronco principal, de corteza liviana con un color marrón verdoso cuando la planta es joven que a menudo exuda una goma color marrón grisácea (López *et al.*, 2017).

Esta planta es originaria del sudeste de Australia y Tasmania, pero ha sido introducida a América del Norte, América del Sur, Asia, Europa, las islas del Pacífico y del océano Índico, África y Nueva Zelanda, encontrada en bosques tropicales lluviosos. Esta especie juega un papel importante en el ecosistema de su Australia natal debido a que protege los suelos propensos a una rápida erosión tras los incendios forestales (Ogawa y Yazaki, 2018).

Acacia mearnsii tiene una propiedades específica como la fijación de nitrógeno (N) atmosférico en el suelo, permitiendo que otras especies en los bosques puedan usarlo como hidrógeno biosférico producto del metabolismo intrínseco de las bacterias en los nódulos que existen en su sistema de raíces expansivas, convirtiéndose así en parte fundamental de la regeneración de los matorrales luego de incendios.

El género *Acacia* contiene más de 1000 especies (Tabla 2.1), justo detrás del género más grande de la familia *Fabaceae*, *Astragalus*, que contiene más de 3000 especies (Van Aerdschot, 1926).

Tabla 2.1. Descripción taxonómica del género *Acacia*

Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Fabales</i>
Familia	<i>Fabaceae</i>
Subfamilia	<i>Mimosoideae</i>
Tribu	<i>Acacieae</i>
Género	<i>Acacia</i>

Fuente: Van Aerdschot (1926)

2.2.1. EMPLEO DE ACACIA (*Acacia mearnsii*) EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL

Existen varios usos de este tipo de plantas en la alimentación de rumiantes debido a que su contenido de sustancias taninos se consideran como reguladores de la función ruminal y ayudan a disminuir la producción de gases efecto invernadero (GEI).

Wischer *et al.* (2013) realizó un experimento utilizando seis vacas canuladas para valorar el efecto de los taninos sobre la fermentación ruminal en el ganado bovino con dosis de 300 mg/animal/día de *monesina* y 100 mg animal/día de un extracto rico en tanino de *Acacia mearnsii* obteniendo una reducción de un 10.7% de metano, mientras que la inclusión de tanino redujo en un 8.0%, lo que concluyó que el uso de estas sustancias en las dietas ha mostrado ser una opción viable para mejorar la eficiencia energética y disminuir el metano entérico.

Cortés *et al.* (2009) realizaron una prueba de inclusión en la dieta de taninos de *Acacia mearnsii* hasta 18g/kg de materia seca, observando que existió una disminución del nitrógeno excretado en la orina y mejora el suministro de aminoácidos en novillos alimentados con forraje de avena fresca más concentrados, sin afectar significativamente la digestibilidad concluyendo que los taninos extraídos de *Acacia lebbekoides* y *Acacia cornigera* podrían utilizarse para proteger la degradación ruminal de proteínas de alto valor biológico como los de la harina de soya.

2.2.2. FACTORES NUTRICIONALES Y ANTINUTRICIONALES DE ACACCIA (*Acacia mearnsii*) EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL

Kim *et al.* (2012) señalan que los existen diferentes extractos de plantas que contienen compuestos secundarios como taninos, saponinas y aceites esenciales que pueden modificar la fermentación ruminal sin dejar residuos, siendo una alternativa para disminuir las emisiones entéricas de metano y mejorar el metabolismo en los rumiantes (Cortéz *et al.*, 2009; Naumann *et al.*, 2013).

Goel *et al.* (2015) describieron a los taninos como compuestos flavonoides solubles en agua presentes en los tejidos de vegetales de varias especies leguminosas como *Acacias*, *Leucaenas*, *Asteráceas*, entre otras que son leguminosas de países tropicales y subtropicales que se pueden utilizar en la alimentación de rumiantes ayudando a la regulación de la fermentación de rumen favoreciendo en la disminución de la emisión de Metano y Dióxido de carbono considerados como gases con efecto invernadero.

Por otra parte, Wischer *et al.* (2013) Observaron que los taninos forman complejos con carbohidratos, proteínas e incluso con enzimas, provocando una reducción de la biodegradación en rumen de estos componentes evitando la producción de gases utilizando estos productos finales gracias al ecosistema microbiano que tiene una función específica utilizando estos productos del metabolismo para la síntesis de nueva proteína que será aprovechada a nivel de las paredes ruminales y duodeno (Gurbuz, 2009).

2.3. VALORACIÓN NUTRICIONAL DE FORRAJES

La valoración de los pastos y forrajes tiene como objetivo conocer su composición química (Zambrano, 2016) dentro de los cuales existen algunos factores: animal (interacción entre las pasturas) y de la planta (digestibilidad, ambientales, entre otros).

En los últimos años se han desarrollado métodos para evaluar alternativas de control de la población microbiana, modulación de la fermentación ruminal mediante el uso de diferentes componentes que intervienen en su fisiología; ácidos orgánicos, extractos de plantas, probióticos entre otros (Calsamiglia *et al.*, 2010).

2.4. DETERMINACIÓN DE DIGESTIBILIDAD DE ALIMENTOS

Los rumiantes fisiológicamente tienen condiciones ambientales óptimas para los microorganismos del rumen que intervienen en la degradación y fermentación de los alimentos, el resultado final del proceso fisiológico de la degradación es la síntesis de ácidos grasos volátiles y proteína de origen microbiano como suministro de energía y proteína para el animal (Calsamiglia *et al.*, 2007; Astuti *et al.*, 2011). Sin embargo, en este proceso existen ineficiencias de energía en forma de metano y amoníaco que pueden limitar el rendimiento de producción y contribuir a la liberación de gases contaminantes al medio ambiente (Ávila *et al.*, 2015).

Según la FAO, el sector ganadero aporta alrededor del 18% del total de las emisiones de metano. Las ovejas y las cabras producen de 10 a 16 kg de CH₄ al año mientras que el ganado bovino produce de 60 a 160 kg de CH₄ al año. (Degré *et al.*, 2001 y Moss y Givens, 2002).

Existen varios métodos para determinar la digestibilidad de pastos y forrajes en rumiantes dentro de los cuales se puede estimar el proceso de digestión y absorción de nutrientes en el tiempo para las proteínas y lípidos sin incluir los aportes de compuestos endógenos que permiten establecer proporciones degradadas (Brito y Vera, 2018).

2.5. METODOS PARA DETERMINAR DIGESTIBILIDAD EN ALIMENTOS

A lo largo del siglo XX se ha descrito varios métodos para la determinación de la digestibilidad de alimentos en rumiantes y no rumiantes que han servido para estimar la dinámica de la degradación de los forrajes en el tiempo cuyos estudios han sido considerados de gran importancia para los estudios de nutrición logrando que se permita orientar y profundizar sobre esta rama (Posada y Noguera, 2005).

2.5.1. DIGESTIBILIDAD *IN VIVO*

Se conoce también como método de la digestibilidad aparente, se utiliza para estimar la cinética de la digestión de nutrientes (MS, PC, entre otras) ya que pueden medir los efectos combinados del alimento y del animal siendo el objetivo

de esta técnica medir la tasa intrínseca o inherente en el tiempo del grado de digestión del alimento siendo esta directamente proporcional al sustrato (Acosta, 2016). Existen ventajas y desventajas en esta técnica: como ventaja se puede decir que este método es relativamente exacto pero el tiempo es largo por lo que se considera poco práctico siendo esta una desventaja.

2.5.2. DIGESTIBILIDAD *IN SITU*

Descrita por Ørskov *et al.* (1980), se utiliza una bolsa de fibra artificial con poros en donde se estima la rápida tasa de pasaje y el grado de degradación (%) de los alimentos en rumen en donde se realiza un pesado de la muestra antes y después de introducirla en rumen. Esta técnica tiene ventajas debido a que el alimento al estar dentro de la bolsa no será expuesto a ninguna reducción debido a la masticación y rumia.

2.5.3. DIGESTIBILIDAD *IN VITRO*

La digestibilidad *in vitro* es un método que se lleva a cabo simulando una fermentación anaerobia, se basa en el principio de someter una muestra de forraje en un recipiente a la acción de inóculo de líquido ruminal filtrado, saturando todo el medio de CO₂, con el fin de asimilar las condiciones naturales que ocurren en el rumiante. Después de un determinado tiempo se mide la cantidad de materia seca, materia orgánica o celulosa que ha desaparecido durante la incubación (Tilley y Terry, 1963).

2.5.4. TÉCNICA DE PRODUCCIÓN DE GASES

La técnica de producción de gases ha sido investigada a lo largo de estos años e ideada con el objetivo de determinar que la cinética de la digestión puede ser evaluada por la desaparición de la Fibra Detergente Neutro (FDN) o por la medición del gas liberado en la fermentación del rumen (Bayona *et al.*, 2013). Sin embargo en la actualidad esta técnica se ha modificado para tener una mejor cuantificación de una manera automatizada práctica y eficiente con la utilización de jeringuillas graduadas que permiten medir en el tiempo la presión de gas liberado por medio de equipos sofisticados.

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLOGICO

3.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

La presente investigación se llevó a cabo en la granja experimental Querochaca y laboratorio de Ruminología de la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias, ubicada en Querochaca, sector el Tambo, Cantón Cevallos de la provincia de Tungurahua en las coordenadas geográficas 1°25'0" Sur (latitud), 78°36'0" Oeste (longitud) cuyas condiciones climáticas se describen en la Tabla 3.1.1.

3.2. CONDICIONES CLIMÁTICAS

Tabla 3.1.1. Condiciones climáticas

Variables	Valor
Altitud (msnm)	2900
Humedad Relativa Promedio (%)	91
Temperatura Máxima °C	20
Temperatura mínima °C	7
Precipitación Promedio (mm)	517.8

Fuente: Estación meteorológica UTA Reporte 2018

3.3. DURACIÓN DEL TRABAJO

La presente investigación tuvo una duración de 6 meses desde el mes de octubre de 2018 con el inicio de la cosecha de las plantas, hasta el mes de abril de 2019 para la realización de las pruebas *in situ* y de laboratorio para la obtención y procesamiento de los resultados.

3.4. FACTOR DE ESTUDIO

Niveles de inclusión de follaje de *Acacia mearnsii* en dietas para bovinos.

3.5. TRATAMIENTOS

Los animales se distribuyeron en un diseño completamente aleatorizado en los siguientes tratamientos (Tabla 3.4.1).

Tabla 3.4.1. Tratamientos ensayados de muestras homogéneas de dietas con *Acacia mearnsii*

T1	<i>Medicago sativa</i> 50% y <i>Lolium perenne</i> 50%,
T2	<i>Medicago sativa</i> 40% y <i>Lolium perenne</i> 40% y <i>Acacia mearnsii</i> 20%,
T3	<i>Medicago sativa</i> 30% y <i>Lolium perenne</i> 30% y <i>Acacia mearnsii</i> 40%,
T4	<i>Medicago sativa</i> 20% y <i>Lolium perenne</i> 20% y <i>Acacia mearnsii</i> 60%

Medicago sativa: Alfalfa; *Lolium perenne*: Raigrás

3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el desarrollo de esta investigación se utilizó un diseño completamente al azar, con cuatro tratamientos y seis repeticiones, para un total de 24 observaciones. El modelo general lineal a utilizar será:

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + \epsilon_{ijk}$$

En donde:

Y_{ijk} = Representa la observación correspondiente al tratamiento i de la repetición j .

μ = Efecto constante denominado media global.

t_i = Efecto del tratamiento i . Donde $i = 1, 2, 3$ y 4 .

ϵ_{ijk} = Efecto del error experimental con media cero y varianza común.

El esquema de ADEVA se muestra en la tabla 3.5

Tabla 3.5.1. Fuente de variación de los datos

Fuentes de variación	Grados de libertad
Tratamientos	3
Error experimental	20
Total	23

3.7. UNIDAD EXPERIMENTAL

3.7.1. EXPERIMENTO 1: CINÉTICA DE LA DEGRADABILIDAD DE LA MS Y MO DE DIETAS CON ACACIA (*Acacia mearnsii*)

Toretos mestizos y canulados de dos años de edad con un peso promedio de 350 kilos ($n=6$) que representaron una unidad experimental.

3.7.2. EXPERIMENTO 2: PRODUCCIÓN DE GASES (CH₄, CO₂), pH RUMINAL Y DIGESTIBILIDAD *IN VITRO*

Frascos de vidrio oscuro (n=24) con capacidad de 100ml en donde se introdujo una solución de saliva artificial y contenido ruminal.

3.8. VARIABLES MEDIDAS

3.8.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

Dietas con distintos niveles de inclusión de follaje de *Acacia mearnsii*

3.8.2. VARIABLES DEPENDIENTES

Cinética de la degradabilidad ruminal (%)

Degradabilidad *in situ* de materia seca (%)

Degradabilidad *in situ* de materia orgánica (%)

Producción de gas metano CH₄ (mLgas/0.500mg/MS/Fermentable)

Producción de CO₂ (mLgas/0.500mg/MS/Fermentable)

Digestibilidad *in vitro* (%)

3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La variabilidad de las observaciones de las distintas variables estudiadas, se analizó a través de la técnica del análisis de varianza (ADEVA) según clasificación simple, teniendo como factor único a los tratamientos. En caso de existir diferencias estadísticas a nivel de los tratamientos, se realizó comparaciones de medias múltiples por medio de la técnica de Tukey al 5%. Los análisis descritos anteriormente serán procesados mediante el programa estadístico GraphPad Prism versión 3.00 para Windows (Motulsky, 1999).

3.10. MANEJO DEL EXPERIMENTO

3.10.1. ANIMALES, ALOJAMIENTO Y ALIMENTACIÓN

Se utilizó 6 toretes de dos años de edad con un peso vivo promedio de 350 kilogramos los cuales se encuentran alojados en corrales de 4x3 metros, previo al inicio de los experimentos fueron identificados, desparasitados y sometidos a ayuno por 24 horas. La alimentación de los animales fue a base de *Medicago sativa*, *Lolium perenne* y *Acacia mearnsii* ofertados a voluntad los cuales tendrán un periodo de adaptación de diez días a las dietas.

3.10.2. PREPARACIÓN DE LAS DIETAS

Las plantas una vez cosechadas, se deshidrataron por exposición al sol durante siete días las cuales posterior a esto serán llevadas al laboratorio de Ruminología en donde fueron procesadas (molidas) en molino especial de tamices con diámetro de 2mm las cuales se pesaron para la respectiva mezcla para obtener un total de cinco kilos de mezcla por tratamiento (Tabla 3.4.1).

3.10.3. PRUEBA DE DEGRADABILIDAD RUMINAL DE LA MS Y MO

La degradación ruminal *in situ* de los nutrientes se estimó siguiendo la metodología de la bolsa de nylon (0.42 μ) en el rumen descrita por (Orskov, *et al.*, 1980). En cada toro se introdujo una bolsa con 5g de cada tratamiento que se incubaron a los siguientes tiempos: 3, 6, 12, 24, 48, 72 y 96 horas.

Al finalizar las 96 horas las bolsas se removieron, y se lavaron con agua corriente y secaron a 60 °C por 72 horas, las bolsas empleadas para medir la pérdida por lavado (0 h), no se incubaron en el rumen y sólo se lavaron con agua corriente. Los residuos se almacenaron en bolsas de polietileno a - 4 °C hasta su posterior análisis en el laboratorio.

La desaparición de los nutrientes se calculó como una proporción del material incubado y residual. Los datos se ajustaron a las siguientes ecuaciones (Ørskov y McDonald, 1979).

$$\text{Degradabilidad ruminal: } Y = a + b (1 - e^{-ct})$$

$$\text{Degradación efectiva: } DE = a + [(b \cdot c)/(c + k)]$$

En donde:

Y= Porcentaje de degradación acumulada en un tiempo t %

a= Intercepto de la curva de degradación cuando t=0 (degradabilidad inicial %)

b= fracción potencialmente degradada en el rumen

c= tasa de degradación (% horas)

t= Tiempo de incubación en el rumen (horas)

e= Base de los logaritmos naturales

K= Tasa de flujo de las partículas del rumen

Para la ecuación de la degradabilidad efectiva se consideró una tasa de pasaje (k) de 0.02, 0.05 y 0.08%.

3.10.4. PRODUCCIÓN DE GASES (NH₄, CO₂) Y DIGESTIBILIDAD *IN VITRO*

Para estas pruebas, se obtuvo contenido ruminal (líquido y la fracción sólida) de forma separada de cada toro (1 toro por tratamiento). El contenido ruminal se colectó antes de la alimentación en la mañana, se almacenó en recipientes plásticos y se transportaron al laboratorio de Ruminología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato para ser procesados dentro de la primera hora de recolección. La preparación de saliva artificial se realizó según lo descrito por Menke y Steingass (1988). La producción de gas, Metano y CO₂ se estableció mediante la metodología descrita por Theodorou *et al.* (1994) la cual consiste en colocar 0.500 mg de cada tratamiento T1, T2, T3 y T4 en botellas de vidrio ámbar con capacidad de 100 ml.

Las botellas se incubaron entre 39 y 40 °C con 60 ml del inóculo (70:30 medio; saliva artificial/inóculo; contenido ruminal) bajo constante flujo de CO₂. La medición de la presión de gas y el volumen se tomó de manera manual a los siguientes tiempos 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72 y 96 horas posterior a la incubación con un transductor de presión (DO 9704, Delta OHM, Italia) y jeringas plásticas.

La producción de metano y dióxido de carbono se cuantificó con un analizador de GAS Detección, modelo GX – 6000, UK. Para cada tratamiento se utilizó seis botellas en cada dieta por cada líquido de las dietas suministradas en cada tiempo y seis botellas adicionales se emplearán como blancos. Al final de la 96 horas los datos se ajustaron a la ecuación monobásica (Groot *et al.*, 1996).

$$\text{ml/gas} = \text{GV} (1 + (\text{B/t})\text{C})^{-1}$$

En donde:

GV: Cinética de producción de gas

B/t: Asíntota de Producción de Gas

C: Tasa de producción de gas (%h)

Para la digestibilidad *in vitro* se utilizó seis frascos más por cada tratamiento que se incubaron hasta las 48 horas para estimar la MS y MO. De cada tratamiento y cada tiempo (6, 12 y 24 h post incubación) se medirá el pH ruminal con ayuda de un pH-metro (BANTE-221 portable pH/ORP Meter).

3.11. METODOLOGÍA

3.11.1. EXPERIMENTO 1: CINÉTICA DE LA DEGRADABILIDAD DE LA MS Y MO DE DIETAS CON ACACIA (*Acacia mearnsii*)

La degradación ruminal *in situ* de los nutrientes se estimó siguiendo la metodología de la bolsa de nylon (0.42 μ) en el rumen descrita por (Orskov, *et al.*, 1980). En cada toro (n=6) una bolsa que contiene 5g de cada tratamiento que se incubaron a los siguientes tiempos: 3, 6, 12, 24, 48, 72 y 96 horas. Al finalizar las 96 horas las bolsas fueron removidas, lavadas con agua corriente y secada a 60 °C.

3.11.2. EXPERIMENTO 2: PRODUCCIÓN DE GASES (CH₄, CO₂), pH RUMINAL Y DIGESTIBILIDAD *IN VITRO*

Para estas pruebas, se obtuvo contenido ruminal (líquido y la fracción sólida) de forma separada de cada toro (1 toro por tratamiento). El contenido ruminal se colectó antes de la alimentación en la mañana y se almacenó en recipientes plásticos, se transportaron al laboratorio para ser procesados dentro de la

primera hora de recolección. La preparación de saliva artificial se realizó según lo descrito por Menke y Steingass (1988). La producción de gas, Metano y CO₂ se estableció mediante la metodología descrita por Theodorou *et al.* (1994).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 DIGESTIBILIDAD DE LA MS, MO Y PH RUMINAL

La digestibilidad de la MS y MO fue mayor ($P < 0.0001$) en los tratamientos T1 (*Medicago sativa* 50% y *Lolium perenne* 50%) y T2 (*Medicago sativa* 40% y *Lolium perenne* 40% y *Acacia mearnsii* 20%) con 74.7 y 58.4 % para la MS respectivamente y 77.0 y 59.4 % para la MO respectivamente en comparación con los tratamiento 3 y 4 para las variables en estudio (Tabla 4.1).

Tabla 4.1. Digestibilidad de MS y MO de dietas con diferentes niveles de inclusión de *Acacia Mearnsii*

Digestibilidad	TRATAMIENTOS				EEM	P
	T1	T2	T3	T4		
% MS	74.794 ^a	58.141 ^{ab}	41.496 ^b	20.656 ^c	45.6729	<0.0001
% MO	77.093 ^a	59.495 ^{ab}	41.532 ^b	20.681 ^c	49.2517	<0.0001

^{a,b,c} Medias con letra diferente entre filas difieren significativamente ($P < 0.05$). T1: *Medicago sativa* 50% y *Lolium perenne* 50%, T2: *Medicago sativa* 40% y *Lolium perenne* 40% y *Acacia mearnsii* 20%, T3: *Medicago sativa* 30% y *Lolium perenne* 30% y *Acacia mearnsii* 40%, T4: *Medicago sativa* 20% y *Lolium perenne* 20% y *Acacia mearnsii* 40%. EEM: error estándar de la media.

Resultados similares fueron obtenidos por Roa y Muñoz (2012) quienes probaron diferentes niveles de inclusión de Acacia roja (*Delonix regia*) en donde obtuvieron valores cercanos (53 y 56,1%) al tratamiento 2 (58,141%) y refieren que la utilización de plantas con características fenólicas y aminolíticas son consideradas como reguladoras de la función ruminal, las cuales al ingresar al rumen cumplen con una función de moduladora de la microflora bacteriana mejorando su funcionamiento y eficiencia en la degradabilidad de componentes, logrando una mayor digestibilidad para la MS y MO respectivamente.

El pH ruminal, antes del inicio (hora 0) hasta las 24 horas post alimentación, no se observó diferencias entre tratamientos ($P > 0.05$) entre tratamientos a las diferentes horas evaluadas (Tabla 4.2)

Tabla 4.2 Efecto de las dietas con *Acacia mearnsii* sobre el pH ruminal

pH ruminal	TRATAMIENTOS				EEM	P
	T1	T2	T3	T4		
6 Horas	6,97 ^a	7,00 ^a	6,98 ^a	6,96 ^a	0,02018	0,7078
12 Horas	6,94 ^a	7,00 ^a	7,00 ^a	7,01 ^a	0,02773	0,3319
24 Horas	7,25 ^a	7,22 ^a	7,28 ^a	7,28 ^a	0,05669	0,8729

^{a,b,c} Medias con letra diferente entre filas difieren significativamente ($P < 0.05$). T1: *Medicago sativa* 50% y *Lolium perenne* 50%, T2: *Medicago sativa* 40% y *Lolium perenne* 40% y *Acacia mearnsii* 20%, T3: *Medicago sativa* 30% y *Lolium perenne* 30% y *Acacia mearnsii* 40%, T4: *Medicago sativa* 20% y *Lolium perenne* 20% y *Acacia mearnsii* 40%. EEM: error estándar de la media.

Resultados similares fueron obtenidos por Agualongo (2018) quien realizó mezclas de diferentes extractos de plantas, aceite de *Sacha inchi* y una variedad de Acacia (*Acacia melanoxylon*) quien concluye que el resultado puede estar relacionado por la presencia de Taninos Condensados (TC) en estas plantas que al ingresar a rumen tienen afinidad por las proteínas y carbohidratos y afectan la digestibilidad de estos, y al mismo tiempo interactúan sobre la membrana microbiana modificando la respuesta a la proporción y producción de Ácidos Grasos Volátiles (AGVs) impactando sobre los perfiles de producción de gases modeladores de la respuesta pH ruminal.

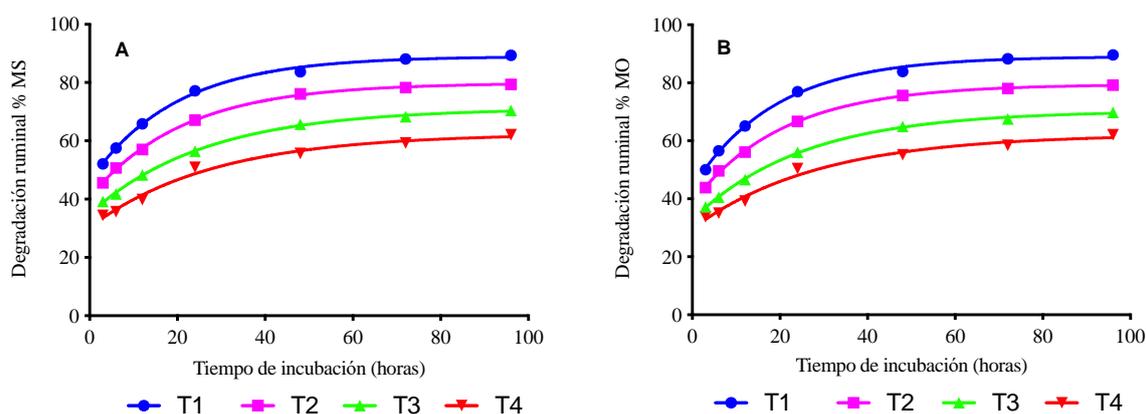
4.2 CINÉTICA DE DEGRADACIÓN RUMINAL *IN SITU* DE MS Y MO

En la Tabla 4.3 y Gráfico 4.1, se observa que la degradación ruminal de la MS y MO en la fracción soluble (a), potencial de degradación (a+b) y degradación efectiva a las diferentes tasas de pasaje 0.02, 0.05 y 0.08% fue mayor ($P < 0.05$) en el tratamiento T1. No obstante, la fracción insoluble pero potencialmente degradable (b) y la tasa de degradación en % por hora (c) no mostraron diferencias entre los tratamientos evaluados ($P > 0.05$).

Tabla 4.3. Degradabilidad ruminal *in situ* de MS y MO de dietas con niveles crecientes de *Acacia mearnsii*

	TRATAMIENTOS % inclusión de <i>Acacia mearnsii</i>				EEM	P	
	T1	T2	T3	T4			
Degradación MS %							
A	45,64 ^a	40,25 ^b	34,72 ^c	29,61 ^d	11,58	<0,0001	
B	44,09 ^a	39,95 ^a	37,53 ^a	37,41 ^a	18,53	0,0641	
C	0,053 ^a	0,048 ^a	0,038 ^a	0,037 ^a	0,0072	0,321	
a+b	89,73 ^a	80,20 ^b	72,13 ^c	67,14 ^d	2,0065	<0,0001	
DE	0.02	76,990 ^a	68,142 ^b	58,702 ^c	51,033 ^d	0,9368	<0,0001
	0.05	67,825 ^a	59,595 ^b	50,557 ^c	43,588 ^d	1,0595	<0,0001
	0.08	62,872 ^a	55,095 ^b	46,583 ^c	40,110 ^d	0,9574	<0,0001
Degradación MO %							
A	43,21 ^a	38,305 ^b	32,560 ^c	28,955 ^c	1,1902	0,0001	
B	46,51 ^a	41,535 ^a	38,893 ^a	38,652 ^a	2,2685	0,081	
C	0,055 ^a	0,049 ^a	0,039 ^a	0,036 ^a	0,0072	0,2523	
a+b	89,733 ^a	79,840 ^b	71,212 ^{bc}	67,848 ^c	2,45019	<0,0001	
DE	0.02	76,693 ^a	67,545 ^b	57,747 ^c	50,518 ^d	0,9507	<0,0001
	0.05	67,088 ^a	58,707 ^b	49,338 ^c	42,965 ^d	1,0795	<0,0001
	0.08	61,830 ^a	54,007 ^b	45,177 ^c	39,465 ^d	0,9767	<0,0001

^{a,b,c,d} Medias con letra diferente entre filas difieren significativamente ($P < 0.05$). T1: *Medicago sativa* 50% y *Lolium perenne* 50%, T2: *Medicago sativa* 40% y *Lolium perenne* 40% y *Acacia mearnsii* 20%, T3: *Medicago sativa* 30% y *Lolium perenne* 30% y *Acacia mearnsii* 40%, T4: *Medicago sativa* 20% y *Lolium perenne* 20% y *Acacia mearnsii* 40%. EEM: error estandar de la media. a: degradación de la fracción soluble, b: degradación de la fracción insoluble pero potencialmente degradable, c: tasa de degradación en % por hora, a+b: potencial de degradación. DE: degradación efectiva a tasas de pasaje por el rumen de 0.02, 0.05 y 0.08%

**Figura 4.1.** Cinética de la degradación ruminal de MS (A) y la MO (B) de dietas con niveles crecientes de *Acacia mearnsii*

Resultados similares fueron obtenidos por Sun *et al.* (2012), Astuti *et al.* (2011), Díaz (2011) y Andueza *et al.* (2011) quienes valoraron la degradabilidad de la MS y MO de *L. perenne* y *M. sativa* en porcentajes similares a los nuestros en la inclusión en dietas para rumiantes en donde la fracción (A) osciló en rangos entre

el 40 y 60% sin embargo, la fracción a+b obtuvo valores de hasta el 125%, la tasa de degradación efectiva no fueron similares a los obtenidos en esta investigación (0.069 a 0.199/h) en donde se deduce que la composición química de *L perenne* presenta características favorables en su composición química por lo que el resultado es positivo en la ingesta para rumiantes.

Cabe destacar que el comportamiento de las fracciones A (altamente digestible) conforme se va incluyendo *Acacia mearnsii* (T2: 20%; T3: 40% y T3: 60%) son menores lo que puede estar determinado por la presencia de taninos y fenoles que influyen en el comportamiento de las bacterias en rumen.

4.3 CINÉTICA DE PRODUCCIÓN DE GAS, METANO Y CO₂

La producción de gas fue menor ($P=0.0001$) en los tratamientos T1 y T2 con una diferencia de 509.3 mLgas/0.500mg de MS Fermentable respecto al de mayor producción de gas T4 (944,05). Sin embargo, la producción de metano fue menor en el T2 ($P=0.0004$) con una diferencia de 48.4 mL/metano/0.500mg de MS Fermentable respecto al de mayor producción T4. No obstante, la menor producción de CO₂ se observó en los tratamientos T1 y T2 ($P=0.0063$) con una diferencia de 236 mL CO₂/0.500mg de MS Fermentable respecto al de mayor producción T4 (Tabla 4.4).

Tabla 4.4. Cinética de producción de gases, metano y dióxido de carbono CO₂ (mL/0.500g MS Fermentable) de dietas con niveles crecientes de *Acacia mearnsii*

	Tratamientos				EEM	P
	T1	T2	T3	T4		
Parámetros de la producción de gas						
PG	360,90 ^c	434,77 ^c	561,25 ^b	944,05 ^a	20,7800	<0,0001
B	28,980 ^a	29,392 ^a	35,753 ^a	38,593 ^a	3,2929	0,0134
C	0,9548 ^a	0,89533 ^{ab}	0,81883 ^{bc}	0,75017 ^c	0,0210	<0,0001
Parámetros de la producción metano						
CH ₄	116,68 ^{bc}	107,71 ^c	141,83 ^{ab}	156,13 ^a	7,2646	0,0004
B	39,882 ^a	39,007 ^a	37,768 ^a	33,237 ^b	1,0719	0,0013
C	4,8050 ^a	5,9733 ^a	5,7433 ^a	5,106 ^a	0,4136	0,1937
Parámetros de la producción CO ₂						
PG (CO ₂)	170,93 ^b	189,63 ^b	229,67 ^{ab}	425,35 ^a	49,4754	0,0063
B	108,79 ^a	105,88 ^a	106,50 ^a	132,47 ^a	33,4967	0,9315
C	1,081 ^a	1,0430 ^a	1,0261 ^a	0,9306 ^a	0,0544	0,2743

^{a,b,c} Medias con letra diferente entre filas difieren significativamente (P<0.05). T1: *Medicago sativa* 50% y *Lolium perenne* 50%, T2: *Medicago sativa* 40% y *Lolium perenne* 40% y *Acacia mearnsii* 20%, T3: *Medicago sativa* 30% y *Lolium perenne* 30% y *Acacia mearnsii* 40%, T4: *Medicago sativa* 20% y *Lolium perenne* 20% y *Acacia mearnsii* 40%. EEM: error estandar de la media. PG: producción total de gas, metano o CO₂. B: asintota de producción de gas, metano o CO₂. C: tasa de producción de gas, metano o CO₂ en % por hora

Estos resultados pese a existir una buena producción de gases (944,05 mL/0.500g MS Fermentable) se observa un efecto positivo en la reducción de la formación de gas metano y CO₂ respectivamente tanto para la asíntota (B) y la velocidad (C) de producción de gases siendo valores que se encuentran en rangos similares a los obtenidos por Chimborazo (2018) quien observó rangos parecidos a los obtenidos en esta investigación con la utilización varias especies de Acacias (*A. melanoxylon*; *A. mearnsii*; *A. hayesii*) y otras especies arbóreas (*Senna muliglandulosa*; *Caesalpinia espinosa* y *Genista monspessulana*).

La producción de gas se encuentra asociada a la cantidad de MO, FDN y FDA que poseen las plantas; sin embargo, la cantidad de taninos que esta planta presenta, puede ser un indicador de modulación de la producción de gases debido a que las bacterias encuentran un ambiente favorable para la multiplicación en el tiempo y adicional a esto los valores de pH al no estar alterados permiten que la replicación de microorganismos sea positiva haciendo que aumenten las bacterias proteolíticas y disminuyan los protozoarios

metanogénicos (lisis y muerte celular) debido a que no existirá formación de hidrógeno y por ende, se reduce la producción de metano y CO₂ (Michaud *et al.*, 2001; Sun *et al.*, 2012 y Armando *et al.*, 2013).

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación permiten concluir lo siguiente:

La digestibilidad de la MS y MO fue mayor en los tratamientos T1 y T2.

El pH ruminal, no mostro variaciones entre los tratamientos en el tiempo de estudio.

La degradación ruminal de la MS y MO en la fracción soluble (a), potencial de degradación (a+b) y degradación efectiva a las diferentes tasas de pasaje fue mayor en el tratamiento T1 en comparación a los demás dietas en estudio.

La producción de gas total fue menor en los tratamientos T1 y T2, sin embargo, la producción de metano fue menor en el T2 respecto al de mayor producción total (T4) y de la misma manera, la menor producción de CO₂ se observó en los tratamientos T1 y T2 respecto al de mayor producción total de gases (T4).

5.2 RECOMENDACIONES

En atención a los resultados obtenidos en esta investigación se recomienda lo siguiente:

Realizar nuevas pruebas de digestibilidad y degradabilidad de la MS, MO, FDA, FDN, PC y consumo voluntario de animales utilizando diferentes edades de corte de la planta a diferentes épocas del año.

Buscar nuevas variantes de mezclas con otras gramíneas y leguminosas en diferentes niveles de inclusión de *Acacia mearnsii* para evaluar el efecto de los componentes sobre la fisiología ruminal y los aportes de nutrientes en rumiantes.

Realizar pruebas de campo en el tiempo para evaluar los niveles aproximados de reducción de gases de efecto invernadero con la utilización de estas plantas en dietas para rumiantes en condiciones naturales de pastoreo.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, N. 2016. Evaluación de la biomasa hidropónica de maíz como alimento para caprinos criollos en crecimiento-ceba. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias, Universidad Central Marta Abreu De Las Villas, Facultad De Ciencias Agropecuarias, Departamento De Medicina Veterinaria y Zootecnia. Cuba. 153 p.
- Andueza, D.; Delgado, I.; Muñoz, F. 2012. Variation of digestibility and intake by sheep of lucerne (*Medicago sativa* L.) hays cut at sunrise or sunset. *The Journal of Agricultural Science*, 150(2), 263-270.
- Armando, J.; Cárdenas, B.; Lemus, C. 2013. Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y cambio climático. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 3(2), 215 – 246.
- Astuti, D.; Baba, A.; Wibaeon, I. 2011. Rumen fermentation, blood metabolites and performance of sheep fed tropical browse plants. *Media Peternakan*, Dec 2011. Pp 201-206.
- Ávila, G.; Kozloski, T.; Orlandi, M.; Mezzomo, P.; Stefanello, S. 2015. Impact of a Tannin Extract on Digestibility, Ruminal Fermentation and Duodenal Flow of Amino Acids in Steers Fed Maize Silage and Concentrate Containing Soybean Meal or Canola Meal as Protein Source. *Journal of Agricultural Science*, 153(5), 943-53.
- Bayona, J.; Porrás, G.; Mashuth, J.; Patiño, J. 2013. Estimación de la técnica in vitro de gases frente a otras técnicas de digestibilidad. *Spei Domus*, 9(18).
- Brito, F.; Vera, J. 2018. Digestibilidad *In situ* y valor nutricional de pasto Saboya asociadas a tres leguminosas forrajeras nativas en la zona norte de Manabí. Tesis Título de Magíster en Nutrición y Producción Animal, Universidad de las Fuerzas Armadas. 82 p.
- Calsamiglia, S.; Busquet, P.; Cardozo, L.; Ferret, A. 2007. Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90(6), 2580-95.
- Calsamiglia, S.; Ferret, A.; Reynolds, C.; Kristensen, N.; Vuuren, A. 2010. Strategies for Optimizing Nitrogen Use by Ruminants. *The Animal science*, 4(7), 1184- 96.
- Chacha, M. 2018. Diseño de un plan de administración ambiental para la Finca Ganadera Domono. Tesis Ingeniero Zootecnista, Facultad de Ciencias Pecuarias. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 165 p.
- Chimborazo, W. 2018. Efecto de leguminosas arbóreas sobre la preferencia de consume en ovinos (*Ovis aries*). Tesis Médico Veterinario Zootecnista, Universidad Técnica de Ambato. 63 p.
- Choez, H, 2017. Diseño e implementación de un sistema silvopastoril en el Centro Nacional de Mejoramiento Genético Caprino, Granja El Azúcar. Tesis Ing Agropecuario, UPSE. La Libertad – Santa Elena, EC. 65 p.

- Coma, J., Bonet, J.; Companys, G. 2004. Producción ganadera y contaminación ambiental. XX Curso de Especialización FEDNA: Avances en nutrición y alimentación animal. Fira de Barcelona, España, 237-272.
- Contino, Y.; Herrera, R.; Ojeda, F.; Iglesias, J. y Martín, G. 2017. Evaluación del comportamiento productivo en cerdos en crecimiento alimentados con una dieta no convencional. *Pastos y Forrajes*, 40(2), 152-157.
- Cortés, J.; Moreno, M.; Pabón, A.; Hesse, H.; Carulla, J. 2009. Effects of Purified Condensed Tannins Extracted from *Calliandra*, *flemingia* and *Leucaena* on Ruminant and Postruminal Degradation of Soybean Meal as Estimated *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 151(3-4), 194-204.
- Costantini, A.; Perez, M.; Busto, M.; González, F.; Cosentino, V.; Romaniuk, R.; Taboada, M. 2018. Emisiones de gases de efecto invernadero en la producción ganadera. Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias.
- Degré, A.; Verhève, D.; Debouche, C. 2001. Emissions gazeuses en élevage porcin et modes de réduction: revue bibliographique. *Biotechnologie Agronomie Société Environment*, 5(3), 135-143.
- Díaz, G. 2011. Valor nutritivo y degradabilidad ruminal de *Avena sativa* y *Vicia sativa*. *Pastos*, 28(1), 71-85.
- Dumont, L.; Carlos, J. 2000. Impacto ambiental de la Actividad Ganadera. *Tierra Adentro*, (32), 31-34.
- FAO, 2017. Revisión de metodologías para estudios de vulnerabilidad y diseño de medias de adaptación al cambio climático aplicables en el sector Ganadero. Quito, Ecuador 19 p.
- Fuentes, J.; Magaña, C.; Suarez, L.; Peña, R.; Rodriguez, S.; Ortiz, B. 2001. Análisis químico y digestibilidad *in vitro* de rastrojo de maíz (*Zea mays* L.) *Agronomía Mesoamericana*. 12:189-192.
- García, A.; Barba, C.; Toro-Mújica, P.; Luque, M. 2015. Valoración económica de la conservación de las razas ganaderas. Lucro cesante y beneficio ambiental. Gestión Sustentable de empresas agroalimentarias. Factores clave de estrategia competitiva. UTEQ. Ecuador.
- García, D.; Medina, M.; Domínguez, C.; Baldizán, A.; Humbría, J.; Cova, L. 2006. Evaluación química de especies no leguminosas con potencial forrajero en el estado Trujillo, Venezuela. *Zootecnia tropical*, 24(4), 401-415.
- Goel, G.; Mamta, R.; Vikas, B.; Kumar, P. 2015. "Anaerobic Degradation of Tannins in *Acacia Nilotica* Pods by *Enterococcus faecalis* in Culture with Ruminant Microbiota." *The Journal of General and Applied Microbiology*, 61(1), 31-33.
- González, B. 2017. Efecto de la alimentación con *Moringa oleífera* en la dieta de vacas lecheras. *Revista Ingeniería Agrícola*, 5(4), 40-45.

- Gurbuz, Y. 2009. Efectos del contenido de taninos condensados de algunas especies de leguminosas en la emisión de gas metano. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 43(3), 265-272.
- Ibrahim, M.; Villanueva, C.; Casasola, F.; Rojas, J. 2006. Sistemas silvopastoriles como una herramienta para el mejoramiento de la productividad y restauración de la integridad ecológica de paisajes ganaderos. *Pastos y Forrajes*, 29(4), 383-419.
- Kim, E.; Kim, C.; Min, K.; Lee, S. 2012. Effects of Plant Extracts on Microbial Population, Methane Emission and Ruminant Fermentation Characteristics in In Vitro. *Asian-Australasian journal of animal sciences* 25(6), 806–11
- López, O.; Sánchez, T.; Iglesias, J.; Lamela, L.; Soca, M.; Arece, J.; Milera, M. 2017. Los sistemas silvopastoriles como alternativa para la producción animal sostenible en el contexto actual de la ganadería tropical. *Pastos y Forrajes* 40(2): 83-95.
- Menke, K.; Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal research and development*, 28, 7-55
- Michaud, R.; Tremblay, G.; Bélanger, G.; Michaud, J. 2001. Crude protein degradation in leaves and stems of alfalfa (*Medicago sativa*). Lloveras, J.(ed.). Quality in Lucerne and medics for animal production. Zaragoza, CIHEAM, 211-214.
- Moss, A.; Givens, D. 2002. The Effect of Supplementing Grass Silage with Soya Bean Meal on Digestibility, in Sacco Degradability, Rumen Fermentation and Methane Production in Sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 97(3-4), 127-43.
- Motulsky, H. 1999. *Analyzing Data with GraphPad Prism*, 1999. San Diego: GraphPad Software Inc.
- Murgueitio, E.; Chará, J.; Barahona, R.; Cuartas, C.; Naranjo, J. 2014. Los sistemas silvopastoriles intensivos (SSPi), herramienta de mitigación y adaptación al cambio climático. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17(3), 501-507.
- Naumann, H.; Tedeschi, L.; Muira, J.; Lambert, B.; Kothmann, M. 2013. Effect of Molecular Weight of Condensed Tannins from Warm-Season Perennial Legumes on Ruminant Methane Production *In vitro*. *Biochemical Systematics and Ecology*, (50),154–62.
- Ogawa, S.; Yazaki, Y. 2018. Tannins from *Acacia mearnsii* de wild. bark: Tannin determination and biological activities. *Molecules*, 23(4), 837.
- Oliva, M.; Valqui, L.; Meléndez, J.; Milla, M.; Leiva, S.; Collazos, R.; Maicelo, J. 2018. Influencia de especies arbóreas nativas en sistemas silvopastoriles sobre el rendimiento y valor nutricional de *Lolium multiflorum* y *Trifolium repens*. *Scientia Agropecuaria*, 9(4), 579-583.

- Ørskov, E.; Deb-Hovell, F.; Mould, F. 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production*, 5 (3), 195-213.
- Pezo, D. 1981. La calidad nutritiva de los forrajes. EN: producción y utilización de forrajes en el trópico: compendio. Turrialba, Costa Rica, CATIE serie de materiales de enseñanza NO. 15
- Posada, S.; Noguera, R. 2005. Técnica *in vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Livestock Research for Rural Development*, 17(4), 12-19.
- Roa, M.; Muñoz, J. 2012. Evaluación de la degradabilidad *in situ* en bovinos suplementados con cuatro especies arbóreas. *Revista MVZ Cordova*. 17(1), 2900 – 2907.
- Salazar, J. 2005. El fósforo en los sistemas ganaderos de leche. *Agronomía Mesoamericana*, 16(2), 231-238.
- Savón, Lourdes, Gutiérrez, Odilia, Ojeda, F., 2005. *Scull, Idania*, Harinas de follajes tropicales: una alternativa potencial para la alimentación de especies monogástricos, *Pastos y Forrajes* [en línea] 2005, 28 (Enero-Marzo): [Fecha de consulta: 27 de septiembre de 2019] Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=269121628006>
- Solís, R. 2017. Efecto de la adición de *Bacillus spp.* en ensilaje de maíz (*Zea mays*) sobre la cinética de degradación ruminal *in situ* y fermentación ruminal *in vitro*. Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato, Facultad de ciencias agropecuarias. 57 p.
- Sun, X.; Waghorn G.; Hatier J.; Easton H. 2012. Genotypic variation in in sacco dry matter degradation kinetics in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Animal Production Science* 52, 566-571.
- Theodorou, M.; Williams, B.; Dhanoa, M.; McAllan, A.; France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* (48), 185-197.
- Tilley, J.; Terry, R. 1963. A two stage technique for *in vitro* digestion of forage crops. *Journal Brazil Grass Society*, (18), 104-111.
- Torres, S.; Delgado, D. 2018. Estudio de los sistemas silvopastoriles como alternativa para el manejo sostenible de la ganadería. *Revista Ciencia y Agricultura*, 15(2), 107-116.
- Van Aerdschot, P. 1926. TRAVAUX BOTANIQUES: publiés en Belgique ou par des Botanistes belges en 1925: XI. Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique/Bulletin van de Koninklijke Belgische Botanische Vereniging, 58(2), 247-261.
- Wischer, G.; Boguhn, J.; Steinga, H.; Schollenberger, M.; Rodehutschord, M. 2013. Effects of Different Tannin-Rich Extracts and Rapeseed Tannin

Monomers on Methane Formation and Microbial Protein Synthesis in Vitro. *Animal*, 7(11), 1796–1805

Zambrano, M. 2016. Potencial forrajero y valorización nutritiva de los pastos *Brachiaria decumbens* y Tanzania con diferentes niveles de fertilización nitrogenada. Tesis Título de Magíster en Producción Animal. Universidad Politécnica del Chimborazo. 191 p.

ANEXOS

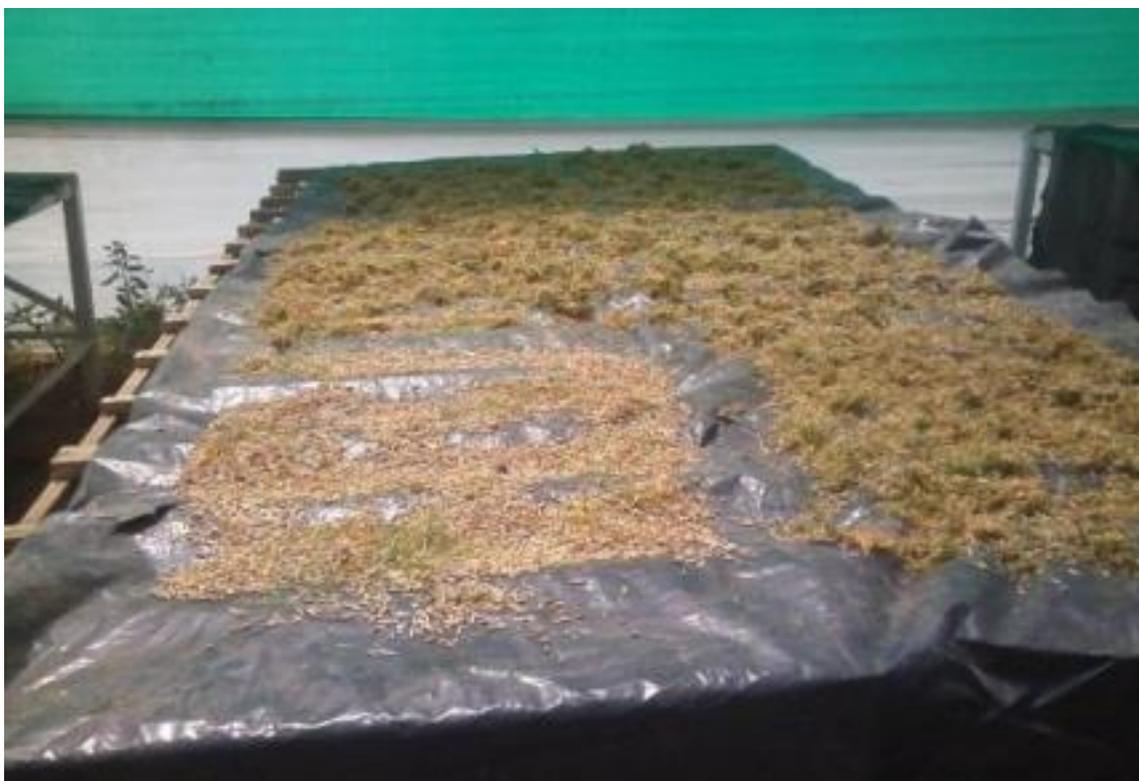
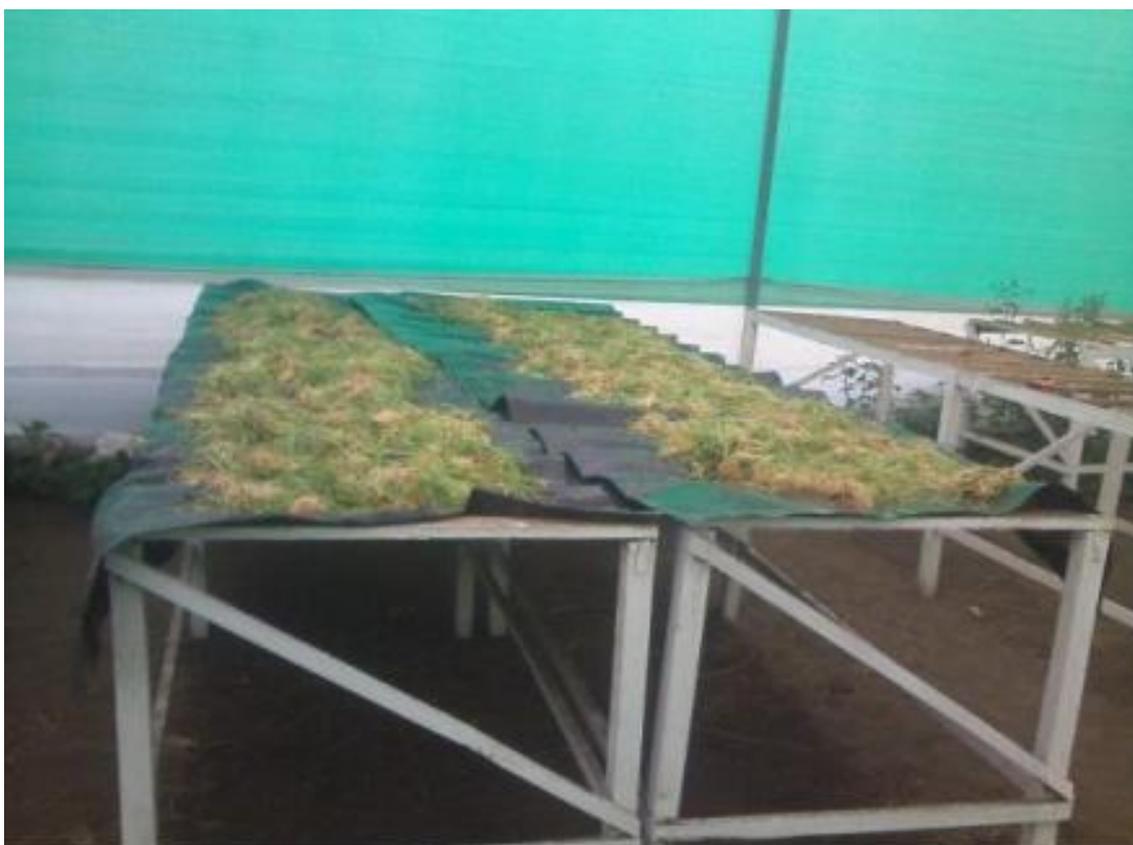
Anexo 1. Bovinos mestizos fistulados para la investigación



Anexo 2. Dietas para bovinos



Anexo 3. Proceso de deshidratación de las plantas



Anexo 4. Saliva artificial



Anexo 5. Lavado de bolsas post incubación ruminal



Anexo 6. Frascos con preparación de saliva e inóculo ruminal para técnica de producción de gases



Anexo 7. Muestras para determinación de MS post incubación en rumen

