



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

DIRECCION DE POSGRADO

MAESTRÍA EN AGRONOMÍA MENCIÓN CAMBIO  
CLIMÁTICO

“IMPACTO AMBIENTAL DE LA INCLUSIÓN DE SAPONINAS EN  
DIETAS FIBROSAS SOBRE LA FUNCIÓN RUMINAL Y  
MITIGACIÓN DE EMISIONES DE DIÓXIDO DE CARBONO Y  
METANO ENTÉRICO EN BOVINOS”

Trabajo de titulación previo a la obtención del grado académico de  
Magister en Agronomía Mención Cambio Climático

**Autor(a):** Ing. César Xavier Veloz Vargas

**Director:** Ing. Marcos Antonio Barros Rodríguez, PhD

Ambato-Ecuador

JUNIO-2020

A la Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Agronomía

El Tribunal receptor del Trabajo de Investigación, presidido por el Ing. Marco Pérez Salinas Magíster, e integrado por los señores Mvz. Edison Vicente Ponce Cepeda Mg, Mvz. Christian Andrés Quinteros Freire MgS ,designados por la Unidad Académica de Titulación de la Universidad Técnica de Ambato, para receptor el Trabajo de Investigación con el tema: "IMPACTO AMBIENTAL DE LA INCLUSIÓN DE SAPONINAS EN DIETAS FIBROSAS SOBRE LA FUNCIÓN RUMINAL Y MITIGACIÓN DE EMISIONES DE DIÓXIDO DE CARBONO Y METANO ENTÉRICO EN BOVINOS", elaborado y presentado por el señor Ing. César Xavier Veloz Vargas, para optar por el Grado Académico de Magíster en Agronomía mención Cambio Climático ; una vez escuchada la defensa oral del Trabajo de Investigación; el Tribunal aprueba y remite el trabajo para uso y custodia en las bibliotecas de la UTA.



Firmado electrónicamente por:  
**MARCO OSWALDO  
PEREZ SALINAS**

-----  
Ing. Marco Pérez Salinas Mg.  
**Presidente del Tribunal**



Firmado electrónicamente por:  
**EDISON  
VICENTE PONCE  
CEPEDA**

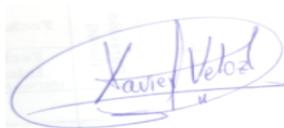
-----  
Mvz. Edison Vicente Ponce Cepeda Mg  
**Miembro del Tribunal**

**CHRISTIAN ANDRES  
QUINTEROS FREIRE** Firmado digitalmente por  
CHRISTIAN ANDRES QUINTEROS  
FREIRE  
Fecha: 2020.09.18 09:20:49  
-05'00'

-----  
Mvz. Christian Andrés Quinteros Freire MgS  
**Miembro del Tribunal**

## **AUTORÍA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el Trabajo de Investigación, presentado con el tema: "IMPACTO AMBIENTAL DE LA INCLUSIÓN DE SAPONINAS EN DIETAS FIBROSAS SOBRE LA FUNCIÓN RUMINAL Y MITIGACIÓN DE EMISIONES DE DIÓXIDO DE CARBONO Y METANO ENTÉRICO EN BOVINOS", le corresponde exclusivamente a: Ingeniero Cesar Xavier Veloz Vargas, Autor bajo la Dirección del Ingeniero Marcos Antonio Barros Rodríguez, PhD, director del Trabajo de Investigación; y el patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.



-----  
Ing. Cesar Xavier Veloz Vargas

c.c. 0604322016

**AUTOR**



Ing. Marcos Antonio Barros Rodríguez, PhD

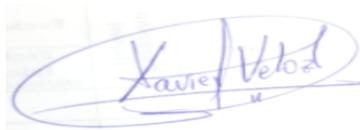
c.c. 1204785156

**DIRECTOR**

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que el Trabajo de Investigación, sirva como un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos de mi trabajo, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad.

A handwritten signature in blue ink, reading "Xavier Veloz", enclosed within a blue oval. The signature is written in a cursive style.

-----  
Ing. Cesar Xavier Veloz Vargas

c.c. 0604322016

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN AGRONOMÍA MENCIÓN CAMBIO**  
**CLIMÁTICO**

**INFORMACIÓN GENERAL**

**TEMA:** “Impacto ambiental de la inclusión de saponinas en dietas fibrosas sobre la función ruminal y mitigación de emisiones de dióxido de carbono y metano entérico en bovinos”

**AUTOR:** César Xavier Veloz Vargas

*Grado académico:* Ingeniero Zootecnista

*Correo electrónico:* [cvelozvargas@hotmail.com](mailto:cvelozvargas@hotmail.com)

**Director:** Ing. Marcos Antonio Barros Rodríguez, PhD

**Línea de investigación:** Medio Ambiente

## **DEDICATORIA**

Familia, amigos, y personas especiales en mi vida, no son nada más y nada menos que un solo conjunto, seres queridos que son de suma importancia inimaginable en mi vida. No podría sentirme más ameno con la confianza puesta sobre mi persona, especialmente cuando he contado con su apoyo incondicional en todo momento.

Este nuevo logro es en gran parte gracias a ustedes; he logrado concluir con éxito un proyecto que en un principio podría parecer tarea imposible e interminable. Quisiera dedicar mi tesis a ustedes, personas de bien, seres que ofrecen amor, bienestar, y con su apoyo demuestran lo maravillosa que es la vida

Muchas gracias a aquellos seres queridos que siempre guardo en mi corazón

CESAR VELOZ

## **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo de tesis primeramente me gustaría agradecerle a ti Dios por bendecirme y hacer realidad este sueño anhelado, a la Universidad Técnica de Ambato y a mis maestros en especial a mi director de tesis al Doctor Marcos Barros por su enseñanza compartida a lo largo de esta investigación y transmitir sus conocimientos, Gracias a todas las personas importantes en mi vida, que siempre estuvieron listas para brindarme todo su apoyo, que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento, especialmente a mi madre MARIANA, por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional sin importar nuestras diferencias de opiniones.

CESAR VELOZ

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

DEDICATORIA .....	7
AGRADECIMIENTOS .....	8
<b>CAPÍTULO I</b> .....	14
<b>1.1. Introducción</b> .....	14
<b>1.2. Justificación</b> .....	16
<b>1.3. Objetivos</b> .....	18
<b>1.3.1. Objetivo general</b> .....	18
<b>1.3.2. Objetivos específicos</b> .....	18
<b>CAPÍTULO II</b> .....	19
<b>2.1. Estado del arte</b> .....	19
<b>2.1.1 Calentamiento global, gases de efecto invernadero (GEI) y efectos en el planeta</b> .....	19
<b>2.1.2. Producción de GEI por sistemas de producción animal y metodologías de medición</b> .....	23
<b>2.1.3. Estrategias de mitigación de GEI en el mundo</b> .....	27
<b>2.1.3.1. Inclusión de saponinas en la alimentación de bovinos como mecanismo de mitigación de gases y efectos en la producción de nitrógeno amoniacal, ácidos grasos volátiles, población de protozoos y digestibilidad</b> .....	29
<b>2.1.3.2. Uso de levaduras como <i>Sacharomyces cerevisiae</i> en la alimentación de bovinos como mecanismo de mitigación de gases y efectos en la producción de nitrógeno amoniacal, ácidos grasos volátiles, población de protozoos y digestibilidad</b> .....	33
<b>CAPÍTULO III</b> .....	37
<b>3.1.1. Nivel o tipo de investigación</b> .....	37
<b>3.3.2. Operacionalización de variables</b> .....	37
<b>3.3.3. Recolección de información</b> .....	38
<b>3.3.3.1. Ubicación del ensayo</b> .....	38
<b>3.3.3.2. Caracterización del lugar</b> .....	38
<b>3.3.3.3. Animales</b> .....	39
<b>3.3.3.4. Diseño experimental</b> .....	40

3.3.3.5. Análisis estadístico .....	40
3.3.3.6. Factores en estudio.....	40
3.1.2. Gas, metano, CO <sub>2</sub> , digestibilidad y protozoos .....	40
3.1.3. Nitrógeno ammoniacal (NH <sub>3</sub> -N) y ácidos grasos volátiles (AGVs) .....	42
<b>CAPÍTULO IV .....</b>	<b>43</b>
<b>4.1. Resultados.....</b>	<b>43</b>
<b>CAPÍTULO V.....</b>	<b>49</b>
<b>5.1 Conclusiones.....</b>	<b>49</b>
<b>5.2. Recomendaciones .....</b>	<b>49</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>50</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Digestibilidad in vitro de MS y población de protozoos en el rumen.....	43
Tabla 2. Cinética de producción de Gas, Metano, Dióxido de carbono, Ácidos grasos volátiles y Nitrógeno amoniacal .....	45

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objeto evaluar in vitro el efecto de la inclusión de saponinas y Yea-sacc, Alltech, en dietas fibrosas sobre la función ruminal y mitigación de emisiones de GEI, además de producción de nitrógeno amoniacal; se utilizó 6 toros con cánulas ruminales, alimentados con una dieta base de 50% de pasto maralfalfa (*Pennisetum purpureum*) más 50% de panca de maíz (*Zea mays*), los tratamientos fueron: T control solo dieta base, T2 dieta base más 3% de saponinas, T3 dieta base de 3% Yea-sacc, Alltech, (*Saccharomyces cerevisiae*) y T4 dieta base más 3% saponinas y 3% Yea-sacc, Alltech,, se manejó un diseño completamente al azar de 4 tratamientos y 6 repeticiones, las variables se analizaron a través de un análisis de varianza en el programa PROC GLM del SAS y para la comparación de medias se realizó la prueba de Tukey al 5 %, los animales estuvieron estabulados en corrales individuales y agua a voluntad, con respecto a la variable digestibilidad in vitro de MS no mostró diferencias entre tratamientos ( $P=0.7684$ ) mientras que la población de protozoarios en el rumen evaluada a las diferentes horas de fermentación, no mostraron diferencias ( $P>0.05$ ), excepto los protozoos Entodiniomorfos a la hora 24 ( $P=0.0001$ ), la disminución in vitro de ésta población de protozoarios observado a las 24 horas en el T2, con respecto a la producción de gas fueron menor ( $P=0.0111$ ) en el tratamiento T2 con 37.2 mL de gas/0.5g MS fermentable, la producción de metano no mostró diferencias entre los tratamientos evaluados ( $P=0.3592$ ), sin embargo, la producción de CO<sub>2</sub> fue menor ( $P=0.0196$ ) en el T2, los ácidos grasos volátiles no se observó diferencias entre los tratamientos; no obstante, en nitrógeno amoniacal fue mayor ( $P>0.05$ ) en los tratamientos T2, T3 y T4, siendo el T2 el de mejor comportamiento en la mitigación de GEI y de aprovechamiento de nitrógeno para beneficio productivo del animal.

## **ABSTRACT**

The objective of the present investigation was to evaluate in vitro the effect of the inclusion of saponins and GISAG in fibrous diets on ruminal function, mitigation of GHG emissions, as well as ammoniacal nitrogen production; 6 bulls with ruminal cannulas were used, fed with a base diet of 50% maralfalfa grass (*Pennisetum purpureum*) plus 50% corn bale (*Zea mays*), the treatments were: T control only base diet, T2 base diet plus 3 % of saponins, T3 base diet of 3% GISAG (*Saccharomyces cerevisiae*) and T4 base diet plus 3% saponins and 3% GISAG, a completely randomized design of 4 treatments and 6 repetitions was handled, the variables were analyzed through an analysis of variance in the SAS PROC GLM program and for the comparison of means, the 5% Tukey test was performed, the animals were housed in individual pens and water at will, with respect to the variable in vitro digestibility of MS showed no differences between treatments ( $P = 0.7684$ ) while the population of protozoa in the rumen evaluated at different hours of fermentation, showed no differences ( $P > 0.05$ ), except for Entodiniomorphie protozoa at hour 24 ( $P = 0.0001$ ), the decrease in vitro of this population of protozoa observed at 24 hours in T2, with respect to gas production, was less ( $P = 0.0111$ ) in the T2 treatment with 37.2 mL of gas / 0.5g DM fermentable, the methane production did not show differences between the evaluated treatments ( $P = 0.3592$ ), however, the CO<sub>2</sub> production was lower ( $P = 0.0196$ ) in T2, the volatile fatty acids did not observe differences between the treatments; however, in ammoniacal nitrogen it was higher ( $P > 0.05$ ) in treatments T2, T3 and T4, with T2 being the one with the best behavior in GHG mitigation and nitrogen utilization for the productive benefit of the animal.

# CAPÍTULO I

## 1.1.Introducción

La estadísticas mundiales de la producción como la industria cárnica bovina recalca el aumento del stock de éstos animales, considerando dentro de este grupo los vacunos y búfalos, a lo cual en los últimos 50 años existió un incremento de manera sostenida el número de cabezas, lo cual ascendió en 1961 de mil millones a mil seiscientos millones en el año 2011, significando un crecimiento promedio anual de 12 millones (Flores, 2012); el efecto invernadero se debe a la absorción de la radiación solar (IR), gases y la superficie de la tierra, que permiten que ésta se caliente y luego se vuelva a encender, y se debe recalcar que los gases de efecto invernadero en nuestra atmósfera son vitales para toda existencia en la tierra, porque al faltar éstos, el planeta permanecería congelado (Moss, Jouany, y Newbold, 2000); la inestabilidad natural del clima se debe a varios factores como: modificación en la radiación solar, alteraciones orbitales, erupciones volcánicas, corrientes oceánicas y la composición atmosférica, observándose de esta manera el incremento acelerado de la temperatura del planeta Tierra (Moss *et al.*, 2000); el calentamiento global se da a partir que los rayos solares que no pueden reflejarse hacia el espacio exterior ingresan a la atmósfera llegando a la tierra provocando que la radiación de onda larga se quede retenida en la misma, incrementando así la temperatura (Yolieth, Rojas, Arenas, y Herrera-Franco, 2019); así es que el metano es considerado como uno de los gases más importante, 25 veces mayor en la capacidad de generar calentamiento global que el CO<sub>2</sub>, de lo cual del 30% al 32% proviene de la fermentación entérica de los rumiantes (Shibata y Terada, 2010), siendo una de las actividades de producción más importante en el mundo (Demeyer y Fievez, 2000),(Carmona, Bolívar, y Giraldo, 2005); (Yolieth, Rojas, Arenas, y Herrera-Franco, 2019); el metano contribuye de manera directa a los cambios climáticos, debido a su interaccionar con la energía infrarroja, y la producción de CO<sub>2</sub> por las diferentes reacciones con la atmósfera (Johnson y Johnson, 1995).

El proceso de fermentación de los carbohidratos por parte de los rumiantes, es un mecanismo fisiológico que da por resultado ácidos grasos de cadena corta como: butírico, acético y propiónico, además se libera calor, metano y dióxido de carbono, considerados éstos productos como pérdida de energía por parte del bovino, la misma que simboliza un porcentaje desde el 2 al 12% de la energía bruta del alimento consumido del animal (Johnson y Johnson, 1995), un bovino adulto puede producir hasta 17 litros de metano por hora y de 150 a 240 L por día (Machado *et al.*, 2011), y al ser un gas que no puede ser metabolizado por el animal, ni tampoco por los microorganismos del rumen, son liberados hacia el medio ambiente en forma de eructo y el proceso complejo de fermentación ruminal sucede debido a la gran variedad de microorganismos existentes, los cuales son esenciales en el rumen en un ambiente anaerobio (Relling y Mattioli, 2002); los agentes responsables del proceso de fermentación son los organismos unicelulares así: bacterias, protozoos y hongos, de los cuales el 60 al 90% lo representa las bacterias, del 10 al 40% los protozoos de tipo ciliado y finalmente del 5 al 10% encontramos a los hongos (Hobson y Wallace, 1982); El ambiente del rumen es de tipo anaeróbico y al existir un paso de alimentos de manera rápida, a lo cual se adiciona los recursos de CO<sub>2</sub> e Hidrógeno proveniente de los forrajes, permitiendo la implantación de una comunidad microbiana de las arqueas, las cuales son la mayoría metanogénicas, las cuales utilizan las moléculas de H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> que producen otros grupos de microorganismos produciendo como subproducto el metano (CH<sub>4</sub>) (Hegarty, 1990); (Morgavi, Forano, Martin, y Newbold, 2010); al incrementar la población de protozoos y la producción de ácido butírico y al existir simbiosis con ciertos grupos de arqueas metanogénicas, colaboran a aumentos en la liberación de metano (Carro, Evan, y González, 2018).

La alimentación de bovinos en sistemas pastoriles a base de proporciones mayoritariamente de gramíneas sobre leguminosas produce el aumento de producción de metano en estudios *in vitro* (Hess, Tiemann, Noto, Carulla, y Kreuzer, 2006); (Hess *et al.*, 2006) como *in vivo* (Woodward, Waghorn, Ulyatt, & Lassey, 2001), la adición en la alimentación de leguminosas con taninos condensados son los responsables del

efecto tanto bactericida como bacteriostática en ciertas poblaciones ruminales (Vargas, Pabón, & Carulla, 2014), principalmente microorganismos de tipo metanogénico (Tavendale *et al.*, 2005); los cuales pueden variar por la dieta y características del hospedero (Espinoza-Velasco, Ramírez-Mella, y Sánchez-Villareal, 2018); por lo tanto la constitución de cada una de las dietas en los animales rumiantes tendrán una relación directa en la producción de gases y acciones sobre las bacterias productoras, lo cual las alternativas nutricionales colaboran en dos frentes importantes: mermar la emisión de metano como el de evitar pérdida de energía en el animal (Ramírez-Flores & Meza-Herrera, 2015)

Investigaciones han determinado que ciertos compuestos secundarios de tipo vegetal como: aceites esenciales, polifenoles y saponinas, levaduras se comportan como sustancias y probióticos importantes a futuro, en la disminución de las emisiones de metano (CH<sub>4</sub>) (Patra y Saxena, 2009); (Wina, Muetzel, y Becker, 2005); (Jiang *et al.*, 2017).

## **1.2. Justificación**

La datos mundiales determinan que la ganadería representa aproximadamente el 18% de emisión de GEI y la deforestación tropical aporta con el 20 al 25% de emisiones también de estos gases (van der Werf *et al.*, 2009); la producción de carne así como de leche y doble propósito son las actividades de mayor impacto ambiental (R. González *et al.*, 2015); los estudios determinan que América Latina y el Caribe (ALC) colaboran al menos con el 9.1% de las emisiones totales de GEI de tipo antropogénica, ocupando por lo tanto el cuarto lugar detrás de Europa, Asia y Norteamérica (Benaouda, González, Molina, y Castelán, 2017), los GEI siendo uno de ellos el metano CH<sub>4</sub>, proveniente de la degradación de la materia orgánica en el rumen, en un medio anaeróbico, por la ayuda de microorganismos como bacterias, protozoos y hongos, denominándolos al conjunto de estos procesos fisiológicos fermentación entérica, el cual libera varios gases, la cantidad dependerá del tipo y calidad alimentaria que los

animales ingieran, los rumiantes que emiten la mayor cantidad de gas metano son el ganado vacuno y ovino, el mismo que es eliminado hacia el medio ambiente mayormente en el eructo y también en las heces (A. González y Carlsson-Kanyama, 2007); contribuyendo al calentamiento global, observándose sus efectos en los glaciares que se derriten, y el riesgo latente de las regiones costeras a las inundaciones, además de afectaciones en los patrones del clima, lo cual se ve afectado la agricultura y modificaciones en la distribución de diferentes enfermedades (Caballero, Lozano, y Ortega, 2007). El consumo por persona de carne bovina como otros productos de origen animal, se ha incrementado de manera significativa alrededor del mundo, complicando la emisión de metano como de los recursos disponibles como agua y tierra (De la Torre, 2015), existe gran variedad de factores en la producción de metano en los animales rumiantes, y así mismo las habilidades deben mostrarse de manera adecuada y minuciosamente elaboradas en la producción animal (Bonilla y Lemus, 2012); por tal razón es imperioso promover nuevas tácticas nutricionales que mermen las emisiones de gases de efecto invernadero, como producto de procesos metabólicos de los rumiantes, además incrementar la eficacia productiva como disminuir las pérdidas energéticas del ganado vacuno (Yolieth *et al.*, 2019); los forrajes mejorados genéticamente pueden ser alternativas viables ya que al contener metabolitos secundarios ampliamente conocidos como taninos y saponinas reducen el componente microbiano metanogénico (Abberton, Macduff, Marshall, y Humphreys, 2008); el uso de levaduras y otros probióticos han demostrado que mejoran la fermentación y cinética ruminal, disminuyendo principalmente la emisión de gases como el metano (Zhu *et al.*, 2017); claramente varios estudios verifican disminuciones de emisión de gases de efecto invernadero como el CH<sub>4</sub> con el uso de aceites esenciales como orégano en vaquillas Holstein (T. Rodríguez, 2014); en la actualidad los esfuerzos tomados por América Latina y el Caribe en la reducción de metano lo han enfocado hacia la cuantificación y factores de emisión, pero pocas investigaciones se dirigen de manera directa y expansiva hacia las estrategias de mitigación (Benaouda *et al.*, 2017); la comunidad como cada individuo se convierten en responsables y al mismo tiempo en beneficiarios de la mitigación, mediante la adopción de prácticas eficaces de los

recursos naturales, manejo controlado de cultivos y de producción ganadera (Nyong, Adesina, y Osman Elasha, 2007); la presente investigación es relevante en el ámbito local y mundial con aportes consistentes y replicativos hacia la conservación de la atmósfera, pertinente a la maestría en Agronomía mención cambio climático, los resultados obtenidos serán difundidos mediante la publicación en una revista de impacto.

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Evaluar el efecto de la inclusión de saponinas y *Saccharomyces cerevisiae* en dietas fibrosas sobre la función ruminal, mitigación de emisiones de dióxido de carbono y metano entérico en bovinos.

#### **.3.2. Objetivos específicos**

Determinar el efecto de la inclusión de saponinas y *Saccharomyces cerevisiae* en dietas fibrosas sobre la digestibilidad, nitrógeno amoniacal, ácidos grasos volátiles

Evaluar el efecto de la inclusión de saponinas y *Saccharomyces cerevisiae* en dietas fibrosas sobre mitigación de emisiones de dióxido de carbono y metano entérico

Determinar el efecto de la inclusión de saponinas y *Saccharomyces cerevisiae* en dietas fibrosas sobre la población de protozoarios del rumen

## CAPÍTULO II

### 2.1. Estado del arte

#### 2.1.1 Calentamiento global, gases de efecto invernadero (GEI) y efectos en el planeta

A. González y Carlsson-Kanyama, (2007) pertenecientes al grupo de Estudios Ambientales del Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente sede en Argentina, en su investigación realizada establecen conceptos claros y necesarios sobre el efecto Invernadero siendo la forma en el cual la atmósfera que compone a la tierra se calienta, en el cual la atmósfera posee una delgada capa de gases que se encuentra rodeando al planeta, importantes para el correcto desarrollo de la vida en la tierra; manifiesta la presencia de dos gases que componen mayormente la atmósfera, Nitrógeno y Oxígeno con 79% y 20% respectivamente, mientras que el 1% restante lo compone otros gases como Argón y CO<sub>2</sub>; los autores en su revisión bibliográfica detallan la presencia de tres GEI: N<sub>2</sub>O, el cual proviene de varias contribuciones de emisión como: fertilizantes sintéticos en el suelo, uso de estiércol en suelos como su almacenamiento, el metano CH<sub>4</sub> liberado hacia la atmósfera proviene de emisiones de la producción agropecuaria como cultivos de arroz, manejo de estiércol y de la fermentación entérica proveniente de bovinos y ovinos principalmente, de manera más probable como lo detalla (Moss et al., 2000) el efecto invernadero producirá efectos graves sobre el suministro de agua, que además con el aumento de la temperatura provocará cambios de distribución de zonas áridas y húmedas en el mundo, alterando de manera significativa el número de plagas que pueden afectar a plantas, como enfermedades que amenazan al bienestar de animales y humanos.

(Carvajal, 2010) en su artículo de revisión en Colombia, conceptualiza que el CO<sub>2</sub> es considerado un gas de suma importancia en la valoración del calentamiento de la tierra, el cual su acumulación se debe a causas naturales como al componente humano, y que la diferencia de medición entre los dos es difícil de establecer, pero tomando en cuenta la tendencia por año a la tala de bosques y quema de combustibles fósiles y de carbón incrementándose en la atmósfera CO<sub>2</sub> concluye el autor que la representación humana

es muy importante al momento de determinar el calentamiento global; además el cambio climático afecta a muchos componentes productivos como la agricultura las cuales empeoran con el transcurso de los años, afectando a sus rendimientos, debido a heladas, sequías, huracanes y olas de calor.

Shibata y Terada (2010) en su artículo de revisión realizada en Japón concluyen que a pesar de la importancia del rumiante al transformar una gama de alimentos, algunas veces de baja calidad, y su capacidad de convertir en compuestos útiles, es imperioso determinar de manera más exhaustiva y específica estrategias más viables y económicamente rentables para la disminución de metano CH<sub>4</sub> y el incremento de la productividad de los animales; y a pesar que existen varias investigaciones con el uso de aditivos en los alimentos como ionóforos, levaduras y ácidos como el fumárico, se presenta una gran dificultad entre la aplicación de experimentos in vivo y in vitro, dado que el rumen al ser una estructura compleja, los cambios pueden ser trascendentales entre las dos experimentaciones, además consideran que la evaluación en la disminución del metano debe efectuarse de manera sistemática y sostenida, es decir medir los cambios por períodos prolongados, considerar el tipo de dieta y los niveles de suplementación que permitan efectos máximos en la reducción de gases de efecto invernadero, también consideran importante los autores sobre la defaunación del grupo de protozoos en condiciones experimentales in vivo, que permitan arrojar datos más reales y sostenidos.

Pérez y López (2011) en el artículo de revisión en México, Oaxaca detallan varias estrategias usadas en la mitigación de producción de gases como el metano, en el cual concluyen que el optar nuevas alternativas que tienen como fin mermar GEI emitido por los bovinos, deben ser estudiados detalladamente para considerar el uso tanto racional y sustentable, sin dejar a un lado la inocuidad que garantice la salud humana, también los autores consideran en su investigación que toda estrategia debe garantizar efectos adecuados sobre parámetros productivos, que permitan producciones eficaces

con una demanda de carne y todos sus subproductos que llenen la demanda social y el cuidado al medio ambiente.

Zúniga-González, Espinosa, Hernández, y Martínez (2012) en el artículo de revisión realizada en México, detallan que el cambio climático no solo deriva en deterioro ambiental, sino que afecta a otros frentes que afectan a la economía, al comercio y a la seguridad regional y mundial, los autores determinaron que la producción bovina en México produce grandes cantidades de gases de efecto invernadero que son liberados a la atmósfera, y de afectación mundial, éstos gases provienen de la fermentación entérica, sino también del estiércol de los animales, lo cual deteriora la capa de ozono que genera cambios bruscos en las producciones agropecuarias, rescatando los autores que es imprescindible crear estrategias que mitiguen las emisiones de gases, pero que vayan a la par de la productividad animal, siendo gentiles con el medio ambiente.

León, Zamora, y León (2012) realizaron una investigación en dos municipios de Cumbal y Guachucal del departamento de Nariño, Colombia, tomando datos a partir de 200 y 100 fincas respectivamente, cada una de las cuales fueron visitadas y realizadas una encuesta semiestructurada, se compuso de 18 variables, las cuales fueron llenadas de manera directa con el productor y la verificación física, los investigadores se basaron en las guías IPCC y cada uno de los procesos al cuantificar los GEI nivel 1, además según el Panel Intergubernamental de Cambio Climático (IPCC) categorizaron y subcategorizaron al ganado adulto bovino; además al momento de valorar GEI establecieron un orden jerárquico para lo cual sistematizaron las ecuaciones propuestas por el IPCC ubicadas en hojas de cálculo, logrando la cuantificación y análisis de los GEI en los Municipios estudiados, los investigadores concluyeron que al realizar la estimación teórica de los gases de efecto invernadero con respecto al Municipio de Guachucal emite menor cantidad de gases hacia la atmósfera que el Cumbal, existió una relación directa que manifiestan los investigadores que las fincas medianas y grandes serían las responsables de la mayor cantidad de metano, a lo cual proponen

que esas fincas deben iniciar estrategias de mitigación con miras hacia la ganadería ecológica.

Gerber *et al.*, (2013) representantes de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura ubicada su sede en Roma, observan que, dentro del panorama global, la modificación del clima está transformando en la tierra varios ecosistemas, con lo cual amenazan el presente y futuro generacional, determinando que es urgente realizar varios recortes importantes en las emisiones de metano por parte del planeta, todos estos factores debido al crecimiento poblacional, el cual alcanzará aproximadamente a 9600 millones al 2050, lo cual al sumado el crecimiento demográfico y la urbanización de las ciudades, implica problemas al sector alimentario y agrícola debido a la disminución de los recursos naturales como deterioro de la tierra, contaminación del agua, y que decir de la pérdida de la biodiversidad, FAO prevé mediante sus investigaciones que para el 2050 aumentará la demanda de carne y leche en un 73% y 58% respectivamente con más desgaste para el planeta.

Sancho, Rivera, & Obando (2015) investigadores de la Dirección de Cambio Climático del Ministerio de Ambiente y Energía (MINAE) de Costa Rica detallan que en éste país se espera que las emisiones de gases de CO<sub>2</sub> crezcan de 12.7 millones de toneladas de en 2015 a 29.6 millones de toneladas en el 2050, lo cual representa un aumento aproximado de 132%, mientras que para el 2030 VE32, las emisiones se estiman en 20.4 millones de toneladas de CO<sub>2</sub>, que representa el 60% más que el año 2015 en éste país. Este grupo de investigadores de Costa Rica ubicaron simbólicamente al año 2021 como establecimiento de estrategias de mitigación, para lo cual analizaron un grupo compuesto de 24 opciones de mitigación en cinco sectores principales, concluyendo que el país podría reducir las emisiones en 340 millones de toneladas de CO<sub>2</sub>, todo esto dependerá según los autores, de las barreras de implementación, como costos y la capacidad de varios grupos como financieros y tecnológico.

Cadilhac, Torres, Calles, Vanacker, y Calderón (2017) realizado en el Ecuador a partir del Proyecto MAE/GEF/PNUD, y en colaboración con el Senescyt y Ministerio del ambiente analizaron mediante red, los diferentes proyectos e investigadores con temas relacionados con el medio ambiente, para lo cual se ayudaron de una herramienta de recolección de datos, tipo encuesta efectuada en línea, para lo cual registraron en total 48 proyectos, de los cuales obtuvieron un total de 30 investigaciones, otro 17 proyectos estaban enfocados sobre mecanismos de mitigación, y los últimas 8 investigaciones revisadas por los autores trataban sobre temas de física del cambio climático; entre otros hallazgos finales detallados por los autores en el Ecuador existen investigaciones en energías renovables y aprovechamientos de biomasa a partir de líquidos y sólidos, concluyendo los investigadores que debe mejorarse las relaciones interinstitucionales, financiamiento, infraestructura, fortalecer capacidades humanas y principalmente de difusión.

### **2.1.2. Producción de GEI por sistemas de producción animal y metodologías de medición**

Primeramente se debe conceptualizar que es la metanogénesis, lo cual según Demeyer & Fievez (2000) en su artículo, realizado en Bélgica, lo detallan como un mecanismo biológico, que proviene del metabolismo de bacterias anaerobias estrictas, de la familia *Archaea*, los cuales utilizan como sustratos el metano, acetato y CO<sub>2</sub>; los autores concluyeron en su revisión que para considerar las estimaciones de emisión de gases efecto invernadero reales en países europeos para las diferentes categorías fisiológicas de los animales la establecen de la siguiente manera: 6% para el ganado adulto, 3.5% criados con dietas altas en concentrados; 6.5% para vacas lactantes europeas; 7% para el ganado vacuno europeo en crecimiento (excepto los terneros durante los 2 o 3 meses posteriores al destete); 7.5% para búfalos y 7% para camellos.

En su investigación de revisión los autores (Carmona *et al.*, 2005) en Antioquia Colombia, realizan conclusiones que señalan finalmente que las emisiones de metano generadas por todos los rumiantes principalmente bovinos, tienen un efecto bastante

importante si se considera hacia el impacto ambiental que representa éste gas, el cual produce aumento de la temperatura global como daño de la capa de ozono, otro de los problemas palpables es la pérdida de energía del animal al transformarse los componentes alimenticios en gran parte en GEI, proponen como muchos autores alrededor del mundo estrategias que minimicen los efectos hacia el medio ambiente e incremento de los parámetros productivos de los animales. En el artículo revisan sobre técnicas de medición de metano las cuales existen en gran variedad entre las que mencionan: espectroscopía infrarroja, espectroscopía de masa, técnicas de diodo láser y cromatografía de gas, mediante ecuaciones de regresión de consumo de energía digestible (ED), existen técnicas cerradas, técnicas con trazadores, ecuaciones de predicción y finalmente los métodos fermentativos *in vitro*, siendo los más efectivos, de bajo costo, e importantes al momento de generar resultados nutricionales y fisiológicos y de alta correlación con procesos *in vivo*.

Las investigación realizada por (A. González & Carlsson-Kanyama, 2007), sobre las emisiones de metano por parte de la fermentación entérica provocada por bovinos en Suecia y con el uso de ecuaciones de predicción detallan que la producción lechera en Europa, el factor de emisión representa el 109 kg de metano por animal y por año siendo 2725 kg CO<sub>2</sub>-equivalente por animal según las tablas PICC 2006; la emisión de CH<sub>4</sub> por Kg de leche es de 0,565 kg, mientras que por Kg de carne de faena primaria es de 9.20 Kg; concluyendo que éstos datos representan valores importantes al considerar la afectación al medio ambiente, además de su consideración sobre sustentabilidad y el uso de energías renovables.

La Corporación Brasileña de Investigación Agropecuaria Ministerio de Agricultura y Ganadería (Machado et al., 2011) mediante investigaciones sobre la emisión de metano por los rumiantes en producciones ganaderas bovinas en varios departamentos del Brasil, entre sus varias consideraciones finales detallan que como consecuencia de los procesos de fermentación gastrointestinal de éstos animales, dado por sus capacidad de obtener a partir de forraje, compuesta por paredes celulares principalmente celulosa y

en la producción de leche y carne, los cuales son considerados como un proceso normal del desarrollo y alimentación humana; el estudio de la capacidad de producción de metano por los diferentes sistemas agropecuarios, y sus estrategias de mitigación, deben considerarse desde una visión global, tomando en cuenta todo el sistema de producción y dinámica del carbono en todos los sistema de producción, en Brasil todas las instituciones nacionales que se dedican a la investigación, son los encargados principales de llevar el inventario en los datos de emisión de gases de efecto invernadero, permitiendo que esté al alcance de otras organizaciones internacionales y la creación de varias soluciones sostenibles para las producciones ganaderas, siendo de suma importancia esta conexión entre la investigación de tipo multidisciplinaria además de interinstitucional que generen estrategias adecuadas para el beneficio de la sociedad.

En el presente estudio de revisión investigativa en México por (Bonilla y Lemus, 2012) detallan el estudio en la emisión de GEI; las emisiones de metano CH<sub>4</sub> por el ganado bovino en éste país lo estimaron a través del inventario ganadero, debido a que existe la probabilidad que diferentes especies puedan caer en más de una categoría, la cual la establecen según la metodología del Panel Gubernamental para el Cambio Climático (IPCC), las mediciones de gases en México en el año 2002 de metano fue de 480,409 y para el 2006 ascendió a 492,862; los autores detallan varias metodologías para medir las emisiones de gases efecto invernadero entre las que se numeran las siguientes: espectroscopia infrarroja, cromatografía de gases, espectroscopia de masa técnicas de diodo laser, calorimetría( cámaras cerradas, cámaras abiertas y cámaras de respiración), gases trazadores, colecta directa, método micrometereológico, estimadores de la producción de metano; los autores declaran que no existen metodologías sencillas, esto es decir ni fáciles ni de estandarizar, tanto en estudios in vivo como in vitro de implementar (fáciles de implementar y estandarizar en cualquier laboratorio) para efectuar estudios sobre la producción de metano *in vitro o in vivo*.

El investigador y sus colaboradores (J. Rodríguez et al., 2019), midieron los GEI en un establo ganadero del Departamento de Agricultura y Ganadería (DAG), usando la técnica de covarianza de vórtices, la cual la efectuaron en la Universidad Sonora en Hermosillo, México; en vacas razas Holstein/Jersey, alimentadas a partir de pastos de zacate ryegrass, con dos ordeños uno en la mañana a las 5:30 y otra en la tarde a las 5:30 pm, en un período que duro de noviembre a diciembre del 2017; para lo cual los investigadores ubicaron una torre micrometeorológica de 6 metros de alto, a la cual la colocaron en el sector norte de las instalaciones del área del monitoreo; encima de ésta colocaron un sistema GHG-2 de marca LICOR, el cual constó de un espectroscopio de circuito abierto (LI-7700) el cual midió el gas metano (CH<sub>4</sub>), además de un analizador de gases infrarrojo de circuito cerrado (LI-7200) el cual midió bióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y vapor de agua (H<sub>2</sub>O), con una bomba LI-7200-101 para el analizador de gases con infrarrojo (IRGA), acompañados de un anemómetro sónico CSAT3; los instrumentos los ubicaron viendo hacia el sur (~180°) y el equipo CSAT3 fue puesto con dirección al oeste a 140° de azimut, con lo cual procuraron los mínimos disturbios de los vientos que les redujeron la pérdida de datos; además el sistema de alimentación eléctrica de todos los instrumentos lo hicieron mediante el uso de paneles solares, con controladores de 20 A y baterías de ciclo profundo para almacenamiento, con lo cual aseguraron que cada una tuviera una capacidad superior a los 100 Ah, al momento de la colecta de los datos de las variables de CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O las muestrearon a 10 Hz y las almacenaron en una memoria USB de 16 Gb en el módulo LI-7550, creando archivos cada 30 min, con 18 000 registros cada uno mientras que los datos que almacenaron dentro del LI-7550 las colectaron periódicamente y fueron procesadas por el software EddyPro versión 6.2, el mantenimiento de los instrumentos lo realizaron de dos a tres veces por semana; los resultados obtenidos en el flujo de metano y dióxido de carbono, los incrementos de intervalos a 30 minutos de CO<sub>2</sub> estuvieron relacionados a los de CH<sub>4</sub>, al menos cuando los vientos provinieron de orientación sur y suroeste, asociado a la ubicación de los animales, y principalmente en la tarde y en la noche, Además observaron que existen pocos valores de CO<sub>2</sub> negativos, que pueden indicar fijación de carbono por fotosíntesis, indicando que ambos flujos provinieron de lugares

cercanos al sitio de medición, igualmente la relación CO<sub>2</sub>:CH<sub>4</sub> en el experimento mostró una alta correlación, por lo que los autores definen que podría ser utilizada en la estimación indirecta de metano a partir de CO<sub>2</sub>; los investigadores recomiendan en la estimación o medición de los flujos de gases en sistemas estabulados y semi estabulados el modelo de footprint como evaluador de las fuentes móviles y así concluyeron que éste método sería ideal en las estimaciones que consideren las limitaciones de este tipo de instalaciones al utilizar la técnica de covarianza de vórtices.

### **2.1.3. Estrategias de mitigación de GEI en el mundo**

(Ramírez, Posada, & Noguera, 2014) en su investigación detallan que la producción ruminal de metano resulta siempre en la conversión ineficiente de la energía contenida en el alimento, lo que se resume en la menor retención de la misma por parte de los rumiantes, calculan que producción de CH<sub>4</sub> en vacas lecheras se encuentra entre 40 kg/animal/año, en África y Medio Oriente, y de 121 kg/ animal/año en América del norte, las cuales contribuyen de manera significativa al calentamiento global, lo cual resumen que al mejorar la eficiencia digestiva mejora el desempeño animal, al tiempo que reduce el impacto ambiental por parte de la producción ganadera.

(Soto, 2015) mediante sus investigaciones detalla que los carbohidratos estructurales (celulosa, hemicelulosa) son fermentados a un ritmo menor que los no estructurales (almidón, azúcares), por ende el autor detalla que es ampliamente aceptado que las dietas basadas en granos reducen las emisiones de metano por unidad de materia seca consumida, en comparación con las dietas forrajeras, y ésta razón la da por tres motivos: a) aumento en la producción de propionato, reduciendo el sustrato disponible para la metanogénesis; b) disminución del pH ruminal con la consecuente inhibición del crecimiento de metanógenos en el rumen; c) disminución del número de protozoarios debido al incremento de la tasa de pasaje.

(Navarro-Villa, O'Brien, López, Boland, & O'Kiely, 2016) mediante su investigación determinaron de manera general que la composición química del ensilaje consumido

por el ganado puede influir en los patrones de fermentación microbiana del rumen y las emisiones de metano, evaluaron el efecto del ensilaje sobre la producción de metano en rumen in vitro del ryegrass perenne y relacionaron las características de fermentación de ensilaje a partir de ensilajes de pasto con metanogénesis de rumen in vitro, para lo cual utilizaron tres tratamientos de acondicionamiento de forraje antes de la cosecha y siete tratamientos con aditivos de ensilaje en un experimento de silo a escala de laboratorio para producir una diversidad de características de fermentación de ensilaje. El ensilaje redujo la producción de CH<sub>4</sub> en el rumen in vitro (ml/g de MS degradada) y la fermentación acética ( $p < 0,05$ ), aumentando la producción de ácido propiónico, este fenómeno pudo explicarse por la transformación de los carbohidratos solubles del forraje en ácido láctico durante el proceso de ensilaje, lo cual favorece la producción de ácido propiónico en una ruta no metanogénica que consume H<sub>2</sub>.

(Zhou, Hernandez-Sanabria, & Guan, 2017) tuvieron como objetivo el comprender los metanógenos ruminales como esenciales para la mitigación de gases de efecto invernadero, así como para mejorar el rendimiento animal en la industria ganadera, ya que se ha especulado que la diversidad ruminal metanogénica afecta de manera directa la eficiencia de alimentación del huésped y produce diferencias en la producción de CH<sub>4</sub>, para lo cual analizaron los perfiles metanogénicos en el rumen utilizando análisis de electroforesis en gel de gradiente desnaturante por PCR (PCR-DGGE) independiente del cultivo, el cual se procesó en 56 bovinos de carne que diferían en la eficiencia alimenticia, así como en la dieta (el ganado fue alimentado con una dieta baja en energía y una dieta de alta energía); los perfiles metanogénicos de PCR-DGGE detectados se vieron muy afectados por la dieta, y el patrón principal cambió de una comunidad que contiene predominantemente *Methanobrevibacter ruminantium* NT7 con la dieta de baja energía a una comunidad que contiene predominantemente *Methanobrevibacter smithii*, *Methanobrevibacter sp.* AbM4 y / o *M. ruminantium* NT7 con la dieta de alta energía, la abundancia de metanógenos totales se estimó determinando el número de copias de los genes 16S rRNA de metanógenos. Sin embargo, el tamaño de la población de metanógenos no se correlacionó con las

diferencias en la eficiencia alimenticia, la dieta o las mediciones metabólicas; por lo tanto, la estructura de la comunidad metanogénica a nivel de especie o cepa puede ser más importante para determinar la eficiencia de alimentación del huésped en diferentes condiciones dietéticas ruminales.

El investigador (Patra, 2019) en su artículo de revisión bibliográfica detalla que los aceites esenciales de las plantas tienen propiedades antimicrobianas, lo cual es efectivo también sobre un número considerable de microbios ruminales y en los últimos años los especialistas microbiólogos y nutricionistas, han puesto suma importancia en el uso de éstas sustancias como aditivos en la alimentación animal, que aunque han sido utilizados en el performance ruminal en la producción de ácidos grasos volátiles, metabolismo de las proteínas e inhibición de la metanogénesis; muchos estudios de éstos aceites esenciales obtenidos a partir de un sin número de plantas, no han sido del todo concluyentes por lo tanto el investigador detalla que es importante valorar la dosis, estructura química de los compuestos, fisiología del animal y el tipo de dieta; por lo cual la adaptación de los microorganismos ruminales al efecto de los aceites esenciales sigue siendo de poco estudio, sin muchos detalles sobre el mecanismo ruminal que puede producir; por lo cual considera que los componentes de los AE pueden ser considerados a futuro como excelentes aditivos en la nutrición de los rumiantes.

#### **2.1.3.1. Inclusión de saponinas en la alimentación de bovinos como mecanismo de mitigación de gases y efectos en la producción de nitrógeno amoniacal, ácidos grasos volátiles, población de protozoos y digestibilidad**

Los investigadores (Abreu et al., 2003) realizaron un experimento in vitro mediante el uso del sistema conocido como Rumen Simulation Technique (RUSITEC) en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) en Santander de Quilichao, Cauca, midieron el efecto del fruto completo, del pericarpio y del extracto de saponinas semipurificadas de *Sapindus saponaria* sobre la liberación de metano además de la fermentación ruminal. Como sustrato básico utilizaron una mezcla compuesta por 60% de *Brachiaria dictyoneura* cv. Llanero y 40% de hojas de *Cratylia argentea*, y

observaron el efecto de la inclusión de 8% de fruto, 5% de pericarpio y finalmente el 1.2% de extracto de saponinas semipurificadas de *Sapindus saponaria* de pureza del 95% aproximadamente en base seca, mantuvieron el suministro diario de materia seca de manera constante para la evaluación de los 4 tratamientos durante 2 periodos de 10 días cada uno, siendo 4 días de ajuste y 6 de revisión en el sistema de RUSITEC con 8 fermentadores, con dos fermentadores por tratamiento en cada período, los datos alcanzados fue a partir de un diseño de bloques completos al azar, concluyendo que no hubo efecto ( $p>0.05$ ) de los tratamientos sobre la concentración de amoníaco en el líquido ruminal, pero el fruto y el pericarpio si disminuyeron el recuento de protozoos ciliados en un porcentaje del 50 con respecto al control ( $p<0.05$ ), mientras el contaje de bacterias fue similar en todos los tratamientos ( $p>0.05$ ). Con respecto a parámetros de digestibilidad no existió cambios en la degradación de los nutrientes ( $p>0.05$ ), excepto en fibra en detergente neutro que fue 9.3% menor en el tratamiento con fruto ( $p<0.05$ ). Con respecto a la liberación de metano diaria por cada fermentador no hubo significancia. Sin embargo, el fruto, el pericarpio y el extracto de saponinas si disminuyeron la liberación de metano por gramo de materia orgánica degradada en 9.5, 5.6, y 4.5% respectivamente ( $p<0.05$ ). los autores recalcan que la reducción significativa de la población de protozoos ciliados este confirmando que, si existe un potencial defaunante del fruto completo y del pericarpio de *Sapindus saponaria*, y a pesar que no está asociada a una disminución de metano, podría ser útil en otros procesos ruminales como el uso del nitrógeno.

(Castro-Montoya, Makkar, & Becker, 2011) realizaron un método experimental utilizaron dos saponinas obtenidas de *Quillaja saponaria* y *Gypsophilla paniculata*, que fueron utilizadas mediante estudios in vitro, los autores plantearon la siguiente hipótesis: los taninos y las saponinas alteran la composición química de los microbios del rumen y los parámetros de fermentación ruminal. Taninos purificados de quebracho, mimosa, castaño y zumaque; y las saponinas de quillaja y gypsophilla las incubaron con 380 mg de sustrato (heno: concentrado 70:30 p / p) durante 24 h en un sistema de producción de gas in vitro a concentraciones de 0.25 a 1.25 mg mL<sup>-1</sup>. Las

saponinas aumentaron el Nitrógeno y redujeron el contenido de azúcar de los microbios asociados con el líquido. La proporción de proteínas crudas a bases de purina aumentó significativamente al agregar taninos de zumaque y castaños y disminuyó al agregar taninos de quebracho y mimosa. Los taninos de quebracho, mimosa y castaño redujeron la producción total de ácidos grasos de cadena corta. La relación acetato: propionato disminuyó para todos los aditivos. Los resultados sugieren que, in vitro dependiendo de la fuente y la concentración, los taninos tuvieron un efecto sobre el contenido de nitrógeno y azúcar de los microbios asociados con el líquido, las saponinas aumentaron el Nitrógeno y redujeron el contenido de azúcar del líquido ruminal asociado microbios, y la estimación de la síntesis de proteínas microbianas basada en bases de purina puede conducir a subestimaciones o sobreestimaciones en presencia de taninos y saponinas. Los autores también concluyeron que se requieren mayor cantidad de estudios in vivo para validar los resultados obtenidos en la investigación.

(Jayanegara, Wina, & Takahashi, 2014) tuvieron como objetivo evaluar las emisiones de metano ruminal a través de un enfoque meta analítico de integrar estudios relacionados a partir de artículos publicados que describieron varios niveles de diferentes fuentes ricas en saponina que agregaron a la alimentación de los rumiantes. Los autores construyeron una base de datos a partir de la literatura publicada que informa la adición de fuentes ricas en saponina en varios niveles y monitoreadas las emisiones de metano ruminal in vitro; en consecuencia, tanto los niveles de adiciones de fuentes ricas en saponina, así como las diferentes fuentes de saponina se especificaron en la base de datos. Evaluaron el metano y parámetros de fermentación ruminal, digestibilidad de la materia orgánica, producción de gas, pH, concentración de amoníaco, perfiles de ácidos grasos de cadena corta y finalmente recuento de protozoos. Un total de 23 estudios compuestos por 89 puntos de datos cumplieron con los criterios de inclusión. Los datos que obtuvieron los autores sometieron posteriormente a un metanálisis estadístico basado en una metodología de modelo mixto. En consecuencia, los diferentes estudios se trataron como efectos aleatorios, mientras que los niveles de adiciones de fuentes ricas en saponina o diferentes fuentes

de saponina se consideraron como efectos fijos. Las estadísticas del modelo utilizadas fueron el valor  $p$  y el error cuadrático medio. Los resultados les mostraron que la adición de niveles crecientes de una fuente rica en saponina disminuyó la emisión de metano por unidad de sustrato incubado, así como por unidad de gas total producido ( $p < 0.05$ ). Hubo una disminución en la proporción de acetato (patrón lineal;  $p < 0.001$ ) y un aumento en la proporción de propionato (patrón lineal;  $p < 0.001$ ) con niveles crecientes de saponina. El recuento de protozoos logarítmicos disminuyó ( $p < 0.05$ ) a niveles cada vez más altos de saponina. Comparando entre diferentes fuentes ricas en saponina, todas las fuentes de saponina, es decir, saponinas de quillaja, té y yuca produjeron menos metano por unidad de gas total que la de control ( $p < 0.05$ ). Aunque numéricamente el orden de efectividad de las fuentes ricas en saponina para mitigar el metano fue yuca > té > quillaja, estadísticamente no se diferenciaron entre sí. Al final concluyeron que las propiedades mitigantes de metano de las saponinas en el rumen dependen del nivel y de la fuente.

(Sirohi, Goel, & Singh, 2014) en su estudio de revisión, a partir de un ciento de investigaciones realizadas alrededor del mundo, concluyen que al disminuir las poblaciones de protozoos, las saponinas mejoran directamente la producción de propionato, la síntesis de biomasa microbiana, el flujo de nitrógeno microbiano y la gluconeogénesis, por lo que da como resultado una mejora en el rendimiento general todos los rumiantes, describen también que se han descubierto que las saponinas son un agente eficaz y prometedor para la mitigación de metano del ganado y que a pesar de sus funciones multifuncionales, existe la necesidad de una evaluación adicional para dilucidar su mecanismo exacto de acción, toxicidad, efectos a niveles de genes y relaciones dosis-actividad; además refieren que se necesitan estudios para determinar los perfiles de absorción, disposición y farmacocinética de diferentes saponinas para determinar con mayor precisión qué tipos de saponinas ejercerán efectos farmacológicos máximos in vivo y que además se necesita más investigación para ampliar la comprensión de las modificaciones microbianas de la fracción de saponinas en el rumen y su transporte a diferentes órganos en el huésped animal.

(Galindo et al., 2016) en su investigación determinaron el efecto de un extracto crudo de saponinas en la población microbiana ruminal y producción de metano in vitro utilizando como sustrato el pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*). Los tratamientos los diseñaron de acuerdo con la cantidad de extracto de saponinas así: 1) control, sin saponinas, 2) 0.6 %, 3) 1.2 % y 4) 1.8 % de la MS del extracto crudo de saponina, se utilizó como dieta base el pasto estrella y el extracto de saponinas se obtuvo a partir del fruto de *Sapindus saponaria* y su contenido en saponinas fue de 139.5 mg, equivalente de diogenina. mL<sup>-1</sup>. Los resultados obtenidos tuvieron la reducción en la población de protozoos, independientemente del porcentaje utilizado de saponinas, al momento de evaluar en un grupo principal de bacterias celulolíticas, mediante PCR-RT, indicó que la cantidad de *Fibrobacter succinogenes* no se alteró, mientras que los valores de *Ruminococcus albus* fueron de 25.92; 26.72; 25.2 y 22.35 CT para los niveles 0; 0.6; 1.2 y 1.8 %, respectivamente, en manera general el ácido acético no se modificó por el uso de las saponinas; mientras que el propiónico disminuyó con el 1.2% de inclusión en la dieta, la concentración de ácido valérico fue de 0.68; 0.62; 0.52 y 0.49 mmol.L<sup>-1</sup> para los niveles de 0, 0.6; 1.2 y 1.8 % de extracto de saponinas, respectivamente. Las saponinas incrementaron la representación de metanógenos y la producción de metano, la cual fue superior con 1,2 y 1.8 % de inclusión.

#### **2.1.3.2. Uso de levaduras como *Sacharomyces cerevisiae* en la alimentación de bovinos como mecanismo de mitigación de gases y efectos en la producción de nitrógeno amoniacal, ácidos grasos volátiles, población de protozoos y digestibilidad**

(Pierce, Alibrahim, Palladino, & Whelan, 2013) mediante estudios realizados en Irlanda, mediante supervisión y licencia experimental de todos los procedimientos del Departamento de Salud y Niños, y utilizaron 40 vacas lecheras multíparas fueron seleccionadas del rebaño lechero en UCD Lyons y bloqueado por lactancia previa 305 días de producción de leche, paridas, y fecha de parto prevista, dentro de cada bloque, las vacas fueron asignadas al azar a tratamientos dietéticos en un arreglo factorial 2 × 2, los animales fueron introducidos al pasto gradualmente (GP, n = 20) o abruptamente

(AP, n = 20) después del parto y se les ofreció concentrados con (Y) o sin (C) suplementario Yea-sacc1026 (YS) a razón de  $2.5 \times 10^9$  ufc de *Saccharomyces cerevisiae*, cepa 1026 (Yea-sacc1026, Alltech, KY, Estados Unidos de América). El experimento se realizó desde día 0 hasta 70 postparto (PP). De día 1 a 21 PP, el grupo GP se alojó en un establo de establos y se les ofreció 23 kg de materia seca (MS) / día de un TMR que contenía MS; 27% de ensilaje de maíz, 16.5% de ensilaje de hierba, 3.5% de paja de trigo y 53% de concentrado TMR con o sin YS, la ingesta de alimento individual durante este tiempo se facilitó mediante canales de alimentación computarizados (Sistema RIC; Insentec B.V., Marknesse, Países Bajos). De 21 a 28 PP, al grupo GP se le permitió el acceso al pasto entre el ordeño de la mañana y la tarde (08:00 y 15:30 h) y tuvo acceso al TMR entre el ordeño de la tarde y la mañana. Durante este tiempo, los grupos GP se introdujeron en los concentrados de pasto a una tasa inicial de 3.5 kg de DM / día aumentando en 0.5 kg de DM / día hasta el día 28. Para el día 28, el grupo GP estaba pastando a tiempo completo sin TMR suplementario. A los animales del grupo AP se les ofreció 20 kg de DM / día de una planta perenne a base de hierba de centeno, mejoró la producción de ácido propiónico sobre acético, además mejoró la producción de ácidos grasos de cadena corta, concluyendo los autores que al mejorar la calidad de la leche producida por las vacas mejora también nivel nutricional y de salud para los niños del país de Irlanda.

(Mohamed, 2016) tuvo como objetivo evaluar in vitro la capacidad fermentativa de inóculos fecales equinos sobre nueve forrajes fibrosos en presencia de *Saccharomyces cerevisiae*, los forrajes fibrosos estuvieron compuestos por los siguientes: rastrojo de maíz (*Zea mays*), paja de avena (*Avena sativa*), bagazo y hojas de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), hojas de pasto llanero (*Andropogon gayanus*), hojas de pasto Taiwán (*Pennisetum purpureum*), paja de sorgo (*Sorghum vulgare*) y hojas de pasto estrella (*Cynodon plectostachyus*), estos sustratos se incubaron con varias dosis de *S. cerevisiae*; en los siguientes tratamientos: 0 (control), 1.25, 2.5 mg y 5.0 mg / g de MS de un producto comercial que contiene  $1 \times 10^{10}$  UFC/ gramo; los inóculos fecales se

obtuvieron de cuatro caballos adultos que fueron alimentados a voluntad (ad libitum) con un concentrado comercial a base de heno de alfalfa, la experimentación con respecto a la producción de gas la registraron a las 2h, 4h, 6h, 8h, 10h, 12h, 24h y 48 h después de la inoculación, además evaluaron la interacción entre los alimentos y la dosis de levadura para el pH fecal ( $P < 0.01$ ), la asintótica de PG (b, ml / g MS); tasa de PG (c, / h); retraso inicial previo a la PG (L, h), PG en 4 h y 48 h ( $P < 0.01$ ), PG a las 8 h ( $p < 0.01$ ), y a las 24 h ( $P < 0.01$ ). Diferencias en la capacidad de fermentación fecal entre los forrajes tropicales y templados ( $P < 0,05$ ) ocurrieron para el pH fecal, c y PG durante las primeras 12 horas, así mismo, se presentaron diferencias ( $P < 0,05$ ) entre los subproductos de la agricultura y los pastos para el pH fecal, y PG a partir de 8 a 48 h.

(Hernández, Murillo, Pámanes, Reyes, & Herrera, 2017) mediante su investigación en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Juárez del Estado de Durango, México; para tal estudio ocuparon 4 animales fistulados de un peso promedio de  $700 \pm 100$  Kg, a los cuales se los alojaron en corrales individuales de 6 x 6 m con bebederos y comederos individuales para cada uno, la dieta suplementada fue según la NRC 2000; los aditivos utilizados fueron: monensina, levadura y sustrato glucogénico, a los animales los alimentaron con cuatro dietas experimentales dos veces al día a las 9:00 y a las 15:00 h, mientras que los rechazos fueron pesados diariamente, el consumo de materia seca se restringió a 2.2% del peso vivo de los animales, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el contenido del nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), ácidos grasos volátiles (AGV), pH y parámetros de cinética ruminal en cuatro novillos con un peso de  $700 \pm 100$  kg con fístulas en el rumen, el experimento contó con cuatro dietas: forraje concentrado 30:70 (T1) con suplementación de monensina, levadura y sustrato glucogénico (T2, T3 y T4, respectivamente). Los datos obtenidos fueron analizados con un cuadro latino con arreglo factorial 4 x 4, los resultados obtenidos en la suplementación de levadura incrementaron la concentración de propionato y disminuyó la de acetato ( $P < 0.05$ ), así mismo la adición de levadura incrementó el N-NH<sub>3</sub> ( $P < 0.05$ ) y favoreció la degradación de proteína ruminal, relacionado de manera directa con el incremento de la cantidad de microorganismos

fibrolíticos y mejorando la digestión ruminal. Con respecto al pH éste no fue modificado ( $P > 0.05$ ). Los autores concluyen que la adición de 10 g de levadura en dietas de ganado para engorde mejora sustancialmente la fermentación ruminal.

(Zhu et al., 2017) realizaron un ensayo en la Universidad de El Comité de Cuidado Animal de Zhejiang, la cual aprobó el uso de animales para este experimento en (Hangzhou, China); realizaron un ensayo de alimentación para evaluar los efectos de cuatro niveles del producto de fermentación a partir de *Saccharomyces cerevisiae* sobre el rendimiento de la lactancia y la fermentación ruminal en vacas lecheras de raza Holstein de media lactancia, las cuales fueron alimentadas con una dieta de baja calidad. Fueron asignadas a este experimento 80 vacas lecheras de manera aleatoria a uno de cuatro tratamientos: con una dieta basal complementada de 0, 60, 120 y 180 g / d de SCFP por cabeza mezclada con 180, 120, 60 o 0 g de harina de maíz, respectivamente. El experimento duró 10 semanas, con 2 semanas de adaptación; obtuvieron de resultados que la ingesta de materia seca fue similar ( $P > 0.05$ ) entre los tratamientos, además hubo una tendencia creciente en la producción de leche (lineal,  $P \leq 0.10$ ) a mayor suplementación con SCFP, pero sin efectos en el contenido de los componentes de la leche ( $P > 0.05$ ); la suplementación de SCFP aumentó linealmente ( $P < 0.05$ ) la conversión de Nitrógeno, sin afectar el pH del rumen y el amoníaco-N ( $P > 0.05$ ), también el nivel creciente de SCFP aumentó linealmente ( $P < 0.05$ ) las concentraciones de ácidos grasos volátiles totales ruminales, como el acetato, propionato y butirato, sin diferencia en la proporción molar de ácidos de manera individual ( $P > 0.05$ ), la población de hongos y ciertas bacterias celulolíticas (*Ruminococcus albus*, *R. flavefaciens* y *Fibrobacter succinogenes*) aumentaron linealmente ( $P < 0.05$ ) pero las de las bacterias que utilizaron el sustrato lactato (*Selenomonas ruminantium* y *Megasphaera elsdenii*) y las que producen lactato (*Streptococcus bovis*) disminuyeron linealmente ( $P \leq 0.01$ ) con un nivel creciente de SCFP, finalmente los derivados de purina urinaria aumentaron linealmente ( $P < 0.05$ ) en respuesta a la suplementación con SCFP, lo que indica que la suplementación con SCFP puede beneficiarse para la síntesis de proteínas microbianas en el rumen.

## CAPÍTULO III

### 3.1. Metodología

#### 3.1.1. Nivel o tipo de investigación

El presente proyecto tuvo un enfoque experimental, exploratorio y descriptivo al evaluar dietas fibrosas in vitro con la adición de enzimas Yea-sacc, Alltech y saponinas respectivamente, se midió sus emisiones de gases de efecto invernadero en la fermentación ruminal, además se analizó la acción sobre la población de protozoarios, nitrógeno amoniacal y producción de ácidos grasos volátiles.

#### 3.3.2. Operacionalización de variables

##### Variable independiente

CONCEPTUALIZACION	CATEGORIAS	INDICADORES	INDICE
Los pastos y forrajes son el sustento principal de alimentación de los rumiantes, lo cual la utilizan a partir del componente de la pared de los mismos los cuales están compuestos por celulosa, hemicelulosa y lignina en menor cantidad, a partir de las cuales forman compuestos ruminales energéticos de utilización por los animales para su manutención y producción cárnica como de leche.	Panca de maíz ( <i>Zea mays</i> )	50%	Gramos
	Maralfalfa ( <i>Pennisetum purpureum</i> )	50%	

### Variable dependiente

CONCEPTUALIZACION	CATEGORIAS	INDICADORES	INDICE
Los estudios in vitro dan información sobre el mecanismo de acción de varias sustancias o aditivos en la producción de gas metano como de otros gases de efecto invernadero, comportamiento microbiano ruminal, producción de nitrógeno y ácidos grasos volátiles, siendo muy importantes en el desempeño productivo animal.	Digestibilidad de MS	Cantidad de forraje digerido	% de MS digerida
	Ácidos grasos Volátiles	Miligramos/litro de AGV	Miligramos /litro
	Producción de gas in vitro	Mililitros de gas producido	g/kg de MS fermentable
	Población de Protozoarios del rumen	Cantidad de Protozoarios	Log (10)
	Nitrógeno amoniacal	Mililitros/decilitro de AGV	ml/dl

### 3.3.3. Recolección de información

#### 3.3.3.1. 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.

#### 3.3.3.2. 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, donde se tomó las muestras a partir de los bovinos canulados.

### **3.3.3.3. Animales**

Para el estudio in vitro se utilizó seis toros con un peso promedio de peso de 380±22.2 kg, los cuales estaban provistos de una cánula ruminal (cuatro pulgadas de diámetro interno, Bar Diamond, Parma, Idaho, EEUU), los bovinos se encontraron alojados de corrales de manera individual y se los alimentó con una dieta a base de una mezcla forrajera de 50% de pasto maralfalfa (*Pennisetum purpureum*) más 50% de paca de maíz (*Zea mays*) y se les proporcionó agua a voluntad, cada dieta de los tratamientos fue preparada con anterioridad, se obtuvo líquido ruminal a partir de los 6 toros canulados, las muestras fueron tomadas en la mañana, los animales en ayunas, la extracción del líquido se lo obtuvo de manera manual, obteniéndose un total de 3 litros (0.5 L por animal) fueron tomadas a partir del rumen y se ubicó en un recipiente estéril, el cual contenía fundas de agua caliente (38 °C) simulando la temperatura del rumen, e inmediatamente fue llevado al laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias el mismo que fue licuado y tamizado y ubicados en los frascos de cada tratamiento, se elaboró saliva artificial a base de una solución de macrominerales el cual llevó las siguientes sustancias: 7.56 g de fosfato de sodio di-básico, 4.96 mono-básico de fosfato de potasio, 0.48 g de sulfato de magnesio en 800 ml de solución total, a lo cual se adicionó solución reductora en una cantidad de 160 ml, finalmente cada frasco fue llenado con 18 ml de líquido ruminal y 42 ml de saliva artificial, previamente adicionado el porcentaje de cada tratamiento de saponinas y Yea-sacc, Alltech, correspondientes por tratamiento.

#### **3.3.3.4. Diseño experimental**

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con cuatro tratamientos y seis repeticiones.

#### **3.3.3.5. Análisis estadístico**

Se estableció un diseño completamente al azar, de 4 tratamientos y 6 repeticiones, las variables se analizaron a través de un análisis de varianza en el programa PROC GLM del SAS y para la comparación de medias se realizó la prueba de Tukey al 5 %.

#### **3.3.3.6. Factores en estudio**

**T1:** Dieta base (50% de pasto maralfalfa (*Pennisetum purpureum*) +50% de panca de maíz (*Zea mays*)

**T2:** Dieta base +3 gramos saponina

**T3:** Dieta base +3 gramos Yea-sacc, Alltech, (Enzima)

**T4:** Dieta base +3 gramos saponinas + 3 gramos Yea-sacc, Alltech, (Enzima)

#### **3.1.2. Gas, metano, CO<sub>2</sub>, digestibilidad y protozoos**

Todas la pruebas se las realizó in vitro, para lo cual se procedió a obtener del rumen de los animales canulados tanto la fracción líquida como la sólida, lo cual se lo hizo por separado de cada animal, el contenido ruminal tomado fue de 1000 ml por muestra tomada, y se la recolectó antes de proporcionarles el alimento y se las mantuvo a una temperatura de 39 °C en un recipiente de plástico sellado durante el transporte al laboratorio; las muestras se las analizó dentro de un tiempo no mayor a los 60 minutos de haber recolectado (Barros-Rodríguez et al., 2017), en un medio rico en nitrógeno manifestado por (Menke, 1988). La producción de gas se determinó según la metodología descrita por (Theodorou, Williams, Dhanoa, McAllan, & France, 1994); de manera pronta se tomó 0.5 g de MS de cada uno de los tratamientos y se ubicó en botellas de vidrio de 100 ml de capacidad nominal, y se añadió 60ml de inóculo ruminal de la siguiente manera: (70:30 medio/inóculo ruminal) mediante un flujo constante de CO<sub>2</sub>, e sellaron las botellas inmediatamente y se las incubó a 39-40 °C, mientras que

la variable de presión de gas y el volumen se lo hizo manualmente a las 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 y 96h, posterior al proceso de incubación con la ayuda jeringas plásticas y un transductor de presión DELTA OHM modelo DO 9704 (Padova, Italia), para cada tratamiento se utilizó seis botellas las cuales representaron las repeticiones por cada uno de los tiempos de incubación y además de cuatro botellas adicionales utilizadas como blanco (Barros-Rodríguez et al., 2017). La producción de CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub> se cuantificó con un analizador de detección de GAS, modelo GX-6000 (Reino Unido); para cada temperatura de secado (tratamientos), se utilizó 6 botellas en las que el inóculo preparado por cada toro (n = 6) fueron considerados como la repetición y además se utilizó tres botellas adicionales por cada animal canulado (inóculo) los cuales fueron utilizados como blancos (Buenaño-Sánchez et al., 2019); al final de las 96 h de la incubación los datos se los ajustó a la ecuación monobásica  $mL_{gas} = GV (1 + (B / t)C) - 1$  descrito por (Groot, Cone, Williams, Debersaques, & Lantinga, 1996). Al final de la incubación, la digestibilidad in vitro (MS fermentable, materia seca [MS]) se la estimó mediante el filtrado de los residuos y se corrigió con la MS residual de los frascos utilizados como blancos, se estimó la producción total de gas, metano (CH<sub>4</sub>) y CO<sub>2</sub> por 0.5 g de materia seca (MS) fermentable, así como la digestibilidad aparente de materia seca (MS) (Barros-Rodríguez et al., 2017). Para el proceso metodológico de cuantificación de protozoos se utilizaron seis botellas adicionales por cada tiempo de incubación (6, 12 y 24 h), para determinar la población de protozoarios del rumen tanto antes como después de exponerlos a las dietas fibrosas, al término de cada período de incubación se retiró de cada botella 1 ml, para lo cual los protozoarios se conservaron con una gota de formol y se mantuvo a 4 °C hasta cuantificarlos utilizando un microscopio óptico (x40) y con la ayuda de una cámara Fucsh-Rosenthal (Barros-Rodríguez et al., 2017), los protozoarios se tiñeron con una solución de verde de metilo formamida según la metodología descrita por (Ogimoto & Imai, 1981).

### **3.1.3. Nitrógeno amoniacal (NH<sub>3</sub>-N) y ácidos grasos volátiles (AGVs)**

Bajo el mismo procedimiento mencionado anteriormente para la producción y digestibilidad de gas, se prepararon 24 botellas de vidrio por cada tratamiento y por cada tiempo (6, 12 y 24 h post incubación). El NH<sub>3</sub>-N y los AGVs se determinaron solo a partir de las 6 horas posteriores a la incubación, para lo cual se filtraron 10 ml de contenido ruminal de cada botella (tratamiento y repetición) a través de una gasa y se mezclaron con 10 ml de HCL al 5% en una botella, luego se almacenaron a 4 ° C, hasta un análisis posterior de NH<sub>3</sub>-N, bajo en el mismo procedimiento, se mezclaron 10 ml de fluido ruminal con 2.5 ml de ácido metafosfórico al 25% en un matraz y se almacenaron a 4 ° C hasta un análisis adicional de AGVs (Barros-Rodríguez et al., 2017).

## CAPÍTULO IV

### 4.1. Resultados

**Tabla 1. Digestibilidad in vitro de MS y población de protozoos en el rumen**

	T1	T2	T3	T4	EEM	Valor P
DIVMS	58.9a	61.1 <sup>a</sup>	61.2 <sup>a</sup>	59.1 <sup>a</sup>	1.99	0.7684
Protozoos (horas) log <sub>10</sub>						
6 H	2.8a	2.9 <sup>a</sup>	2.9 <sup>a</sup>	2.7 <sup>a</sup>	0.08	0.3700
6 E	3.9a	3.8 <sup>a</sup>	3.9 <sup>a</sup>	3.8 <sup>a</sup>	0.03	0.2080
12 H	3.1a	2.9 <sup>a</sup>	2.7 <sup>a</sup>	2.8 <sup>a</sup>	0.13	0.2101
12 E	3.3a	3.7 <sup>a</sup>	3.6 <sup>a</sup>	3.7 <sup>a</sup>	0.12	0.0955
24 H	2.8a	2.7 <sup>a</sup>	2.6 <sup>a</sup>	2.7 <sup>a</sup>	0.11	0.6674
24 E	3.4a	2.9b	3.4 <sup>a</sup>	3.4 <sup>a</sup>	0.07	0.0001

<sup>a,b,c</sup> **Medias con letras distintas entre columnas difieren significativamente (P<0.05).**

**DIVMS: digestibilidad *in vitro* de materia seca, H: Holotricos, E: Entodiniomorfos**

El resultado de Digestibilidad in vitro de MS no mostró diferencias entre tratamientos (P=0.7684) mientras que la población de protozoarios en el rumen evaluada a las diferentes horas de fermentación, no mostraron diferencias (P>0.05), excepto los protozoos Entodiniomorfos a la hora 24 (P=0.0001), la disminución in vitro de ésta población de protozoarios observado a las 24 horas en el T2, se cree es por la adición de saponinas al 3%, lo cual influyó de manera directa de éstos compuestos secundarios adicionados a la dieta base (Nana, Hilou, Millogo, & Nacoulma, 2012), las saponinas mantienen un efecto defaunante en el rumen, debido a su afinidad hacia el colesterol

de la membrana celular de los protozoos provocando su ruptura y lisis (Jayanegara, Leiber, & Kreuzer, 2012); éstos resultados son comparativos y muy similares con estudios realizados por (N. González, Galindo, Aldana, Moreira, & Sarduy, 2011), en el cual la afectación sobre los protozoos entodiniomorfos influyó de manera directa en la formación de gas metano, además existió una semejanza con el autor (Barros-Rodríguez et al., 2015) el cual obtuvo resultados muy cercanos, a las 48 horas sobre la defaunación de éste grupo, al 20% y 40% de adición de forraje con altos contenidos de saponinas, a diferencia de la presente investigación que se logró a las 24 horas al 3% de adición de saponinas comerciales a la dieta base, finalmente la investigación realizada por (Monforte-Briceño, Sandoval-Castro, Ramírez-Avilés, & Capetillo Leal, 2005) mostró efectos defaunantes sobre los Entodiniomorfos a partir de las 48 horas, a pesar que en la presente investigación mostró diferencia significativa a las 24 horas, en el mismo grupo protozoarico con la adición de saponinas a la dieta.

**Tabla 2. Cinética de producción de Gas, Metano, Dióxido de carbono, Ácidos grasos volátiles y Nitrógeno amoniacal**

	Parámetros de producción de GAS			Parámetros de producción de CH <sub>4</sub>			Parámetros de producción de CO <sub>2</sub>			Ácidos Grasos Volátiles (% de mmol/mol)			NH <sub>3</sub> -N, mg/dL
	Gas	B	C	CH <sub>4</sub>	B	C	CO <sub>2</sub>	B	C	C2	C3	C4	
T1	421.9ab	41.1ab	0.9 <sup>a</sup>	179.1 <sup>a</sup>	37.4 <sup>a</sup>	22.4 <sup>a</sup>	156.7a	47.2 <sup>a</sup>	11.0a	65.4a	21.6	13.0	24.2b
T2	395.5b	37.2b	0.9 <sup>a</sup>	166.1 <sup>a</sup>	32.2b	20.1 <sup>a</sup>	128.4b	34.8b	12.5 <sup>a</sup>	64.2a	22.9	12.9	28.3 <sup>a</sup>
T3	430.8a	47.5 <sup>a</sup>	0.8b	161.8 <sup>a</sup>	32.4b	21.4 <sup>a</sup>	140.7ab	41.9ab	11.3 <sup>a</sup>	64.8a	22.1	13.1	26.7 <sup>a</sup>
T4	431.5a	41.2ab	0.8b	172.1 <sup>a</sup>	28.5b	23.1 <sup>a</sup>	151.8ab	39.7ab	11.2 <sup>a</sup>	65.2a	21.4	13.4	27.0a
EEM	7.68	2.21	0.01	7.02	1.16	0.09	6.18	2.50	0.03	3.31	2.04	1.23	0.47
Valor P	0.0111	0.0290	0.0001	0.3592	0.0004	0.1411	0.0196	0.0185	0.0645	0.0639	0.0793	0.1021	0.0003

<sup>a,b,c</sup> Medias con letras distintas entre columnas difieren significativamente (P<0.05). C2: ácido acético, C3: Ácido

**propiónico, C4: ácido butírico**

La producción de gas fue menor ( $P=0.0111$ ) en el tratamiento T2 con 37.2 mL de gas/0.5g MS fermentable con respecto al tratamiento de mayor producción de gas. La asíntota (b) de producción de gas fue mayor ( $P=0.0290$ ) en el T3 y la tasa de producción de gas en % h (c) fue mayor ( $P=0.0001$ ) en los tratamientos T1 y T2 (0.9 y 0.9 % respectivamente). La producción de metano no mostró diferencias entre los tratamientos evaluados ( $P=0.3592$ ). sin embargo, la producción de CO<sub>2</sub> fue menor ( $P=0.0196$ ) en el T2. Con respecto a los ácidos grasos volátiles no se observó diferencias entre los tratamientos. No obstante, en nitrógeno amoniacal fue mayor ( $P>0.05$ ) en los tratamientos T2, T3 y T4 (Tabla 2). La menor producción de gas in vitro en la investigación fue el T2 con un valor de 37.2 mL de gas/0.5 g MS con el 3% de saponina, el cual es muy consistente con los resultados de

(Wei-Lian, Jian-Xin, Jun-An, Yue-Min, & Yan-Qiu, 2005) el cual fue de 47.3 mL de gas/0.5 g MS con la adición de extracto de saponina de té en incubación a 24 horas a una dosis de 8mg, de igual manera los resultados de la presente investigación en la disminución de producción de gas total in vitro, fue similar a los datos obtenidos por (Barros-Rodríguez et al., 2014) en el cual la producción de gas mermó en los tratamientos T2, T3 y T4, el cual estuvo relacionado de manera directa con el incremento porcentual de *Leucaena* en la dieta de ovejas, éste forraje posee altos contenidos de metabolitos secundarios como taninos y saponinas, los cuales afectan de manera directa a la metanogénesis ruminal (Verdecia et al., 2012), el estudio realizado en fermentadores semicontinuos RUSITEC (Belanche, Pinloche, Preskett, & Newbold, 2016) demuestran de la misma manera que los datos obtenidos en la disminución de gas total en la presenta investigación compartieron resultados, el cual al adicionar saponinas a la dieta afectaron la producción de gas total. Con respecto a la producción de CO<sub>2</sub> el T2 fue el mejor tratamiento con un valor de 128.4 mL de gas/0.5 g MS con la adición del 3% de saponinas, en el cual la condición de disminución fue similar a la obtenida por (Avila-Serrano, López-Garrido, Galicia-Jiménez, González-Crespo, & Camacho-Escobar, 2020) en la cual la reducción se dio por la inclusión del 45% de *L. leucocephala*; con respecto al nitrógeno amoniacal existió una convergencia con respecto a la investigación realizada por (Jayanegara et al., 2014), debido a que los resultados obtenidos no afectaron a la producción de nitrógeno amoniacal en los tratamientos T2 (adición de saponinas), T3 (adición de *Sacharomyces*) y T4 (mixto: saponinas y *Sacharomyces*), los cuales se elevaron en relación al tratamiento control, lo cual se explica que los tratamientos mejoraron la utilización de nitrógeno por parte de la microbiota ruminal, disminuyendo la formación de hidrógeno, que produce la liberación de metano (Gutierrez & Davis, 1959), no obstante (Wina, Muetzel, & Becker, 2006), los resultados se ajustan a los obtenidos, ya que la microbiota fue eficiente en la formación del NH<sub>3</sub>-N, mejorando la productividad del animal; finalmente el autor (Hui-Ling, Hua-Long, Wang, Liu, & Yoon, 2013) obtuvo resultados similares, generando formación de nitrógeno, disminuyendo la formación de iones hidrógeno, lo cual se resume en baja en la producción de metano con la adición

de probióticos; los datos obtenidos por (Ahmed et al., 2015) presentaron diferencias significativas entre tratamientos por el uso de *Sacharomyces* sobre la producción de NH<sub>3</sub>-N, generando un mejor comportamiento productivo animal.

## CAPÍTULO V

### 5.1 Conclusiones

Bajo las condiciones in vitro de este estudio de la mezcla forrajera de 50% de pasto maralfalfa (*Pennisetum purpureum*) más 50% de panca de maíz (*Zea mays*) como dieta base, y la adición de saponinas y *Saccharomyces cerevisiae* no tuvo efectos sobre la digestibilidad de materia seca, protozoarios del tipo Holotricos y Entodiniomorfos, existió una disminución de la producción de gas total y CO<sub>2</sub>, mas no redujo las emisiones de CH<sub>4</sub>, la producción de ácidos grasos volátiles no se vio favorecida por ningunos de los tratamientos, finalmente la producción de NH<sub>3</sub>-N fue efectiva en los T2, T3 y T4, mejorando la captación de nitrógeno por parte de la bacterias, siendo una condición muy importante en el performance productivo de los bovinos, se concluye que el T2 fue el de mejor comportamiento, al reducir los gases totales y CO<sub>2</sub>, además de incrementar la formación de NH<sub>3</sub>-N

### 5.2. Recomendaciones

- Realizar investigaciones de la mezcla forrajera utilizada de pasto mar alfalfa y panca de maíz, en diferentes edades de la planta, época del año y evaluar de esta manera la cinética ruminal.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abberton, M., Macduff, J., Marshall, A., & Humphreys, M. (2008). The genetic improvement of forage grasses and legumes to enhance adaptation of grasslands to climate change. *Fao*, p. 39.
- Abreu, A., Carulla, J., Kreuzer, M., Lascano, C., Díaz, T., Cano, A., & Hans-Dieter, H. (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. *Rev Col Cienc Pec*, 16(2), 147–154.
- Ahmed, M., Elghandour, M., Salem, A., Zeweil, H., Kholif, A., Klieve, A., & Abdelrassol, A. (2015). Influence of *Trichoderma reesei* or *Saccharomyces cerevisiae* on performance, ruminal fermentation, carcass characteristics and blood biochemistry of lambs fed *Atriplex nummularia* and *Acacia saligna* mixture. *Livestock Science*, 180, 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.06.019>
- Avila-Serrano, N., López-Garrido, S., Galicia-Jiménez, M., González-Crespo, G., & Camacho-Escobar, M. (2020). Efecto de la incorporación de arbóreas a dietas de *Cynodon nlemfuensis* durante la fermentación ruminal in vitro. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 403–412.
- Barros-Rodríguez, M., Oña-Rodríguez, J., Mera-Andrade, R., Artieda-Rojas, J., Curay-Quispe, S., Aviles-Esquivel, D., ... Guishca-Cunuhay, C. (2017). Degradación Ruminal de Dietas a Base de Biomasa Pos-cosecha de *Amaranthus cruentus*: Efecto sobre los Protozoos del Rumen y Producción de Gas in vitro. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 28(4), 812. <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13931>
- Barros-Rodríguez, M., Solorio-Sánchez, F., Sandoval-Castro, C., Ahmed, A., Rojas-Herrera, R., Briceño-Poot, E., & Ku-Vera, J. (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., Solorio-Sánchez, F., Sandoval-Castro, C., Klieve, A., Rojas-Herrera, R., Briceño-Poot, E., & Ku-Vera, J. (2015). Rumen function in vivo and in vitro in sheep fed *Leucaena leucocephala*. *Trop Anim Health Prod*, 47(4), 757–764.
- Belanche, A., Pinloche, E., Preskett, D., & Newbold, C. J. (2016). Effects and mode of action of chitosan and ivy fruit saponins on the microbiome, fermentation and methanogenesis in the rumen simulation technique. *FEMS Microbiology Ecology*,

92(1), 1–13. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiv160>

- Benaouda, M., González, M., Molina, L., & Castelán, A. (2017). Estado de la investigación sobre emisiones de metano entérico y estrategias de mitigación en América Latina. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(4), 965–974.
- Bonilla, J., & Lemus, C. (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.
- Buenaño-Sánchez, M., Barros-Rodríguez, M., Zurita-Vázquez, H., Hidalgo, L., Pérez-Aldas, L., & Arias-Toro, D. (2019). Efecto de la temperatura de secado de los residuos de *Passiflora edulis* sobre cinética de degradación ruminal y producción de CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub> entérico. *Tropical and Subtropical Agroecos*, (22), 811–818.  
Retrieved from file:///C:/Users/User/Downloads/fvm939e.pdf
- Caballero, M., Lozano, S., & Ortega, B. (2007). Efecto invernadero , calentamiento global y cambio climático : una perspectiva desde las ciencias de la tierra. *Revista Digital Universitaria*, 8(10), 1–11.
- Cadilhac, L., Torres, R., Calles, J., Vanacker, V., & Calderón, E. (2017). Desafíos para la investigación sobre el cambio climático en Ecuador. *Neotropical Biodiversity*, 3(1), 168–181. Retrieved from 8247
- Carmona, J., Bolívar, D., & Giraldo, L. (2005). El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Rev Col Cienc Pec*, 18(1), 49–63.
- Carro, M., Evan, T., & González, J. (2018). Emisiones de metano en los animales rumiantes: influencia de la dieta. *Albéitar*, 220, 32–35.
- Carvajal, Y. (2010). Efectos de la variabilidad climática y el cambio climático en la agricultura. Estrategias de mitigación y adaptación para el sector. *Revista Memorias*, 8(14), 85–102.
- Castro-Montoya, J., Makkar, H., & Becker, K. (2011). Chemical composition of rumen microbial fraction and fermentation parameters as affected by tannins and saponins using an in vitro rumen fermentation system. *Canadian Journal of Animal Science*, 91(3), 433–448.
- De la Torre, R. (2015). Ganadería de carne : su contribución al cambio climático y su creciente presión sobre los recursos naturales. *Revista Bitácora Académica USFQ*, (2), 2–17.
- Demeyer, D., & Fievez, V. (2000). Ruminants et environnement : la méthanogenèse.

*Ann. Zootech*, 49(2), 95–112.

- Espinoza-Velasco, B., Ramírez-Mella, M., & Sánchez-Villareal, A. (2018). Elucidando la relación entre la microbiota ruminal y la emisión de gases de efecto invernadero mediante la aplicación de la genómica. *Agro Productividad*, 11(2), 1–8.
- Flores, M. (2012). Mercado mundial y cadena de valor de la carne bovina. *Cambios En La Sociedad Rural a Inicios Del Siglo XXI*, 1–44. Montevideo-Uruguay.
- Galindo, J., González, N., Abdalla, L., Alberto, M., Lucas, R., Dos Santos, K., ... Sarduy, L. (2016). Efecto de un extracto crudo de saponinas en la población microbiana ruminal y en la producción de metano in vitro con sustrato de pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*). *Cuban Journal of Agricultural Science*, 50(1), 77–88.
- Gerber, P., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet, A., Opio, C., Dijkman, J., ... Tempio, G. (2013). Enfrentando el cambio climático a través de la ganadería. Una evaluación global de las emisiones y oportunidades de mitigación. In *Fao*. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-i3437s.pdf>
- González, A., & Carlsson-Kanyama, A. (2007). Emisiones de gases de efecto invernadero con alto potencial de calentamiento global: el sector agropecuario. *Avances En Energías Renovables y Medio Ambiente*, 11, 7–14.
- González, N., Galindo, J., Aldana, A., Moreira, O., & Sarduy, L. (2011). Effect of four mulberry (*Morus alba* Linn.) varieties on microbial population and fermentative products with rumen liquid from river buffaloes (*Bubalus bubalis*) under in vitro conditions. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 45(4), 399–404.
- González, R., Sánchez, M., Chirinda, N., Arando, J., Bolívar, D., Escobar, D., ... Barahona, R. (2015). Limitaciones para la implementación de acciones de mitigación de emisiones de gases de efecto de invernadero ( GEI ) en sistemas ganaderos en Latinoamérica. *Livestock Research for Rural Development*, 27(12), 1–21.
- Groot, J., Cone, J., Williams, B., Debersaques, F., & Lantinga, E. (1996). Multiphasic analysis of gas production kinetics for in vitro fermentation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 64(1), 77–89.
- Gutierrez, J., & Davis, R. (1959). Bacterial Ingestion by the Rumen Ciliates Entodinium and Diplodinium. *J. Protozool*, 6(3), 222–226.
- Hegarty, R. (1990). Reducing rumen methane emissions through elimination of rumen protozoa. *Aust. J. Agric. Res*, 50(8), 1321–1327.

- Hernández, B., Murillo, M., Pámanes, G., Reyes, O., & Herrera, E. (2017). Parámetros de fermentación y cinética ruminal en novillos suplementados con diferentes aditivos. *Investigación y Ciencia de La Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 72, 5–11.
- Hess, H., Tiemann, T., Noto, F., Carulla, J., & Kreuzer, M. (2006). Strategic use of tannins as means to limit methane emission from ruminant livestock. *International Congress Series*, 1293, 164–167. <https://doi.org/10.1016/j.ics.2006.01.010>
- Hobson, P., & Wallace, R. (1982). Microbial ecology and activities in the rumen: part 1. *CRC*, 165–225.
- Hui-Ling, M., Hua-Long, M., Wang, J., Liu, J., & Yoon, I. (2013). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on in vitro fermentation and microbial communities of low-quality forages and mixed diets. *Journal of Animal Science*, 91(7), 3291–3298.
- Jayanegara, A., Leiber, F., & Kreuzer, M. (2012). Meta-analysis of the relationship between dietary tannin level and methane formation in ruminants from in vivo and in vitro experiments. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96(3), 365–375. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2011.01172.x>
- Jayanegara, A., Wina, E., & Takahashi, J. (2014). Meta-analysis on methane mitigating properties of saponin-rich sources in the Rumen: Influence of addition levels and plant sources. *Asian Australas. Jo. Anim. Sci*, 27(10), 1426–1435.
- Jiang, Y., Ogunade, I., Qi, S., Hackmann, T., Staples, C., & Adesogan, A. (2017). Effects of the dose and viability of *Saccharomyces cerevisiae*. 1. Diversity of ruminal microbes as analyzed by Illumina MiSeq sequencing and quantitative PCR. *Journal of Dairy Science*, 100(1), 1–17.
- Johnson, K., & Johnson, D. (1995). Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73, 2483–2492.
- León, J., Zamora, H., & León, J. (2012). Estrategias De Mitigación Ante El Cambio Climático En Fincas Ganaderas Altoandinas Del Departamento De Nariño \* Mitigation Strategies Before Climate Change in High Andean. *Revista Unimar*, (59), 23–38.
- Machado, F., Ribiero, L., Guimaraes, R., Ferraz, F., Vieira, A., Magalhaes, M., & Frota, M. (2011). *Emissões de metano na pecuária: conceitos, métodos de avaliação e estratégias de mitigação*. Maio.
- Menke, K. (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.
- Mohamed, E. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* y su impacto sobre la capacidad fermentativa microbiana en herbívoros.
- Monforte-Briceño, G., Sandoval-Castro, C., Ramírez-Avilés, L., & Capetillo Leal, C. (2005). Defaunating capacity of tropical fodder trees: Effects of polyethylene glycol and its relationship to in vitro gas production. *Animal Feed Science and Technology*, 123, 313–327. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.016>
- Morgavi, D., Forano, E., Martin, C., & Newbold, C. (2010). Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal*, 4(7), 1024–1036.
- Moss, A. R., Jouany, J. P., & Newbold, J. (2000). Methane production by ruminants: Its contribution to global warming. *Ann. Zootech*, 49(1), 231–253.
- Nana, F., Hilou, A., Millogo, J., & Nacoulma, O. (2012). Phytochemical composition, antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of *Amaranthus cruentus* L. and *Amaranthus hybridus* L. Extracts. *Pharmaceuticals*, 5(6), 613–628. <https://doi.org/10.3390/ph5060613>
- Navarro-Villa, A., O'Brien, M., López, S., Boland, T., & O'Kiely, P. (2016). Grass and Forage Science In vitro rumen methane output of grasses and grass silages differing in fermentation characteristics using the gas-production technique ( GPT ). *Grass and Forage Science*, 1–17. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2012.00894.x>
- Nyong, A., Adesina, F., & Osman Elasha, B. (2007). The value of indigenous knowledge in climate change mitigation and adaptation strategies in the African Sahel. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 12(5), 787–797. <https://doi.org/10.1007/s11027-007-9099-0>
- Ogimoto, K., & Imai, S. (1981). *Atlas of rumen microbiology*. Japan: Scientific Societies press.
- Patra, A. (2019). Effects of essential oils on rumen fermentation, microbial ecology and ruminant production. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 1–13.
- Patra, A., & Saxena, J. (2009). The effect and mode of action of saponins on the microbial populations and fermentation in the rumen and ruminant production. *Nutrition Research Reviews*, 22(2), 204–219.
- Pérez, D., & López, S. (2011). Los rumiantes y el calentamiento global: alternativas para disminuir las emisiones de metano. *Primera Reunión de La Investigación*

*Agropecuaria*, 73–86.

- Pierce, K., Alibrahim, R., Palladino, R., & Whelan, S. (2013). Short Communication: Effect of Timing of Introduction to Pasture Post Calving and Supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* on Milk Fatty Acid Profiles in Early Lactation Dairy. *Food and Nutrition Sciences*, 4, 45–50.
- Ramírez-Flores, J., & Meza-Herrera, C. (2015). Evaluación del impacto ambiental y económico del ganado bovino lechero en la Comarca Lagunera, México. *VI Congreso Nacional y XVI Congreso Estudiantil de Microbiología*, 114–134.
- Ramírez, J., Posada, S., & Noguera, R. (2014). Metanogénesis ruminal y estrategias para su mitigación. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 9(2), 307–323. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/cmvez/v9n2/v9n2a14.pdf>
- Relling, A., & Mattioli, G. (2002). *Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes*. Argentina: EDULP.
- Rodríguez, J., Paz, F., Watts, C., Lizárraga, C., Yépez, E., Jiménez, G., ... Macías, C. (2019). Mediciones de metano y bióxido de carbono usando la técnica de covarianza de vórtices en ganado lechero semiestabulado en Sonora, México. *Revista Terra Latinoamericana*, 37(1), 69–80. <https://doi.org/10.28940/terra.v37i1.412>
- Rodríguez, T. (2014). *Estudio del efecto del aceite esencial de orégano de monte (Lippia origanoides) del Alto Patía sobre la metanogénesis y la actividad fibrolítica del ecosistema ruminal*. Universidad Nacional de Colombia.
- Sancho, F., Rivera, L., & Obando, G. (2015). *Opciones de Reducción de Emisiones de Gases de Efecto Invernadero en Costa Rica : Análisis Sectorial , Potencial de Mitigación y Costos de Abatimiento 2015-2050*.
- Shibata, M., & Terada, F. (2010). Factors affecting methane production and mitigation in ruminants. *Animal Science Journal*, 81, 2–10.
- Sirohi, S., Goel, N., & Singh, N. (2014). Utilization of Saponins, a Plant Secondary Metabolite in Enteric Methane Mitigation and Rumen Modulation. *Annual Research & Review in Biology*, 4(1), 1–19.
- Soto, K. (2015). *Compendio de experiencias en la mitigación de Gas de Efecto Invernadero ( GEI ) para la agricultura y ganadería (IICA)*. San José, Costa Rica.
- Tavendale, M., Meagher, L., Pacheco, D., Walker, N., Attwood, G., & Sivakumaran, S. (2005). Methane production from in vitro rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa* , and effects of extractable condensed tannin

- fractions on methanogenesis. *Animal Feed Science and Technology*, 123–124, 403–419. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.037>
- 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. *Animal Feed Science and Technology*, 48(3–4), 185–197.
- van der Werf, G., Morton, D., DeFries, R., Olivier, J., Kasibhatla, P., Jackson, R., ... Randerson, J. (2009). CO<sub>2</sub> emissions from forest loss. *Nature Geoscience*, 2, 737–738.
- Vargas, J., Pabón, M., & Carulla, J. (2014). Producción de metano in vitro en mezcla de gramíneas-leguminos del trópico alto colombiano. *Arch. Zootec.*, 63(243), 397–407.
- Verdecia, D., Herrera, H., Ramírez, J., Leonard, I., Álvarez, Y., Bazán, Y., ... López, S. (2012). Valor nutritivo de *Leucaena leucocephala*, con énfasis en el contenido de metabolitos secundarios. *Revista Electronica de Veterinaria*, 13(11), 1–10.
- Wei-Lian, H., Jian-Xin, L., Jun-An, Y., Yue-Min, W., & Yan-Qiu, G. (2005). Effect of tea saponin on rumen fermentation in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 120, 333–339.
- Wina, E., Muetzel, S., & Becker, K. (2005). The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production - A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(21), 8093–8105.
- Wina, E., Muetzel, S., & Becker, K. (2006). Effects of daily and interval feeding of *Sapindus rarak* saponins on protozoa, rumen fermentation parameters and digestibility in sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19(11), 1580–1587.
- Woodward, S., Waghorn, G., Ulyatt, M., & Lassey, K. (2001). Early indications that feeding *Lotus* will reduce methane emissions from ruminants. *Proceedings of The New Zealand Society of Animal Production*, 61, 23–26.
- Yolieth, N., Rojas, G., Arenas, N., & Herrera-Franco, V. (2019). Alternativas nutricionales para disminuir emisiones de gas metano por bovinos y su efecto en el calentamiento global. *Revista de La Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 3(1), 1–11.
- Zhou, M., Hernandez-Sanabria, E., & Guan, L. (2017). Characterization of Variation in Rumen Methanogenic Communities under Different Dietary and Host Feed

Efficiency Conditions , as Determined by PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Analysis □. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(12), 3776–3786. <https://doi.org/10.1128/AEM.00010-10>

Zhu, W., Wei, Z., Xu, N., Yang, F., Yoon, I., Chung, Y., ... Wang, J. (2017). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on performance and rumen fermentation and microbiota in dairy cows fed a diet containing low quality forage. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0167-3>

Zúniga-González, N., Espinosa, E., Hernández, P., & Martínez, R. (2012). La ganadería y la emisión de gases de efecto invernadero (GEI) : un nuevo paradigma a considerar. *3er Congreso Nacional de Investigación Socioeconómica y Ambiental de La Producción Pecuaria*, 484–488.

## ANEXOS

### BOVINOS FISTULADOS



## PREPARACIÓN DEL LÍQUIDO RUMINAL



## INCUBACIÓN



# CONTAJE PROTOZOARIOS



