

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**  
**ANTONIO NARRO**  
**UNIDAD LAGUNA**  
**DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**Efecto de la adición de nitrato de plata sobre las variables microbiológicas  
ruminales y producción de metano *in vitro***

**POR**

**JULIO MARTINEZ VALENTIN**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:**

**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREON, COAHUILA**

**JUNIO DE 2017**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Efecto de la adición de nitrato de plata sobre las variables microbiológicas  
ruminales y producción de metano *in vitro*

POR

JULIO MARTINEZ VALENTIN

TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

PRESIDENTE:

  
DR. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ


VOCAL:

  
DRA. LETICIA ROMANA GAYTÁN ALEMAN

VOCAL:

  
MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

VOCAL SUPLENTE:

  
DR. GERMÁN BUENDÍA RODRÍGUEZ  
(DIRECTOR DEL PROYECTO)

  
DR. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Efecto de la adición de nitrato de plata sobre las variables microbiológicas  
ruminales y producción de metano *in vitro*

POR

JULIO MARTINEZ VALENTIN

TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ DE ASESORÍA COMO  
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:


MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

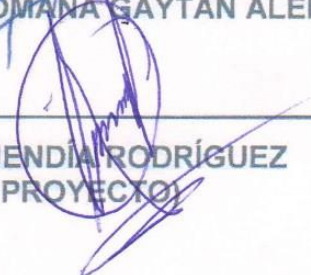
ASESOR PRINCIPAL:

  
DR. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

ASESOR:

  
DRA. LETICIA ROMANA GAYTÁN ALEMAN

ASESOR:

  
DR. GERMÁN BUENDÍA RODRÍGUEZ  
(DIRECTOR DEL PROYECTO)

  
DR. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



## **AGRADECIMIENTOS**

### **Al DR. Germán Buendía Rodríguez**

Por aceptarme y darme la confianza de formar parte de su equipo de nutrición de rumiantes, aconsejarme, hacerme críticas para mejorar mi manera de comunicación y ayudarme en la realización de mi tesis.

### **A LA DRA. Berenice Sánchez Mendoza**

Por contribuir a mi formación dentro del instituto y asesorarme en el desarrollo de esta tesis.

### **Al CENIDFyMA**

Por prestar sus instalaciones para la elaboración de mi tesis y formación académica.

### **A mis padres**

Javier Martínez Saavedra y Margarita Valentín García, por haberme dado la vida y apoyarme incondicionalmente para obtener un logro tan grande como es el convertirme en un profesionalista.

### **A mis hermanos**

Javier Martínez Valentín y Ramón Martínez Valentín, por ser parte de mi familia y darme su ayuda incondicional.

### **A mi Alma Mater**

Por darme una formación como profesionalista y en ella aprender a ser independiente.

### **A todos los maestros de mi universidad**

Por brindarme todo su apoyo, criticarme de manera positiva y darme consejos cuando los necesité.

### **A todos mis amigos dentro y fuera de la universidad**

Por brindarme su amistad y consejos, me faltarían hojas para mencionar a cada uno de ellos sin embargo gracias por creer hasta el último minuto que si podría llegar a concluir mis estudios y convertirme en un Médico Veterinario Zootecnista.

## **DEDICATORIAS**

### **A mis padres**

Javier Martínez Saavedra y Margarita Valentín García, por su confianza, el apoyo que me brindaron hasta el final de esta etapa tan valiosa tanto para ellos como para mí y nunca dudar de mí.

### **A mis hermanos**

Javier Martínez Valentín y Ramón Martínez Valentín, a quienes quiero mucho y siempre contarán conmigo.

### **A mi tía**

Martha Valentín García, por siempre darme consejos y apoyo moral en cada partida de mi lugar natal a mi Universidad.

### **A toda mi familia**

A todos los que estuvieron y siguen estando conmigo gracias.

## RESUMEN

Uno de los problemas que enfrenta hoy en día el planeta es el calentamiento global debido a las altas concentraciones atmosféricas de gases con efecto invernadero, de los cuales los rumiantes son uno de los principales contribuyentes a este problema debido a la fermentación ruminal y por consecuencia la liberación de emisión de gases tales como: metano, bióxido de carbono y óxido nitroso. Se han realizado estudios en cuanto a las la producción de metano *in vitro*, con el uso de diferentes aditivos con la técnica de producción de gas *in vitro* con la finalidad de reducir la cantidad de gas producido, el uso de nitratos tiene una limitada información en cuanto a los deducciones sobre la inhibición de gases con efecto invernadero, Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar la cinética de producción de gas a 72 h mediante dicha técnica, utilizando como aditivo nitrato de plata con porcentajes de inclusión de 0, 1, 2, Y 3 % del cual se demostró que si hubo diferencias ( $p < 0.05$ ). En los porcentajes 1 y 2 %, mostraron una reducción de metano a las de 6 y 12 h de haber iniciado la técnica, lo cual fue favorable para este experimento.

### **Palabras clave:**

Metano, nitratos, gases de efecto invernadero, gas *in vitro*.

## INDICE

	PAGINA
AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
RESUMEN	iii
INDICE	iv
INDICE DE CUADROS	vi
INDICE DE FIGURAS	vii
1. INTRODUCCION	1
2. HIPOTESIS	2
3. OBJETIVOS	2
3.1 OBJETIVO GENERAL	2
3.2 OBJETIVO PARTICULAR	2
4. REVISION DE LITERATURA	3
5. HISTORIA Y ANTECEDENTES	3
5.1 LA GANADERIA EN MEXICO	3
5.2 SISTEMAS DE PRODUCCION EN MEXICO	4
5.3 ALIMENTACION DEL GANADO EN MEXICO	5
6. DIGESTION DE LOS ALIMENTOS Y PRODUCCION DEL METANO	7
6.1 DIGESTION DE LOS ALIMENTOS	7
6.2 PRODUCCION DE METANO	8
6.3 ELIMINACION DE METANO	9
7. NITRATOS	10
7.1 IMPORTANCIA DE LOS NITRATOS EN LA REDUCCION DE EMISIONES DE METANO	10
7.2 TOXICIDAD DE NITRATOS	11
7.3 NITRATOS EN LA ALIMENTACION DE RUMIANTES	12
7.4 NITRATO DE PLATA	12
8. MATERIALES Y METODOS	13
8.1 TECNICA DE GAS <i>in vitro</i>	13
8.2 DIGESTIBILIDAD <i>in situ</i>	14
8.3 pH RUMINAL	14

<b>8.4 CONCENTRACION DE NITROGENO AMONIACAL</b>	<b>14</b>
<b>8.5 CONCENTRACION DE ACIDOS GRASOS VOLATILES</b>	<b>15</b>
<b>(AGV)</b>	
<b>8.6 CONCENTRACION DE BACTERIAS TOTALES</b>	<b>15</b>
<b>8.7 CONCENTRACION DE PROTOZOARIOS</b>	<b>15</b>
<b>9. RESULTADOS</b>	<b>16</b>
<b>10. DISCUSION</b>	<b>22</b>
<b>11. CONCLUSION</b>	<b>25</b>
<b>12. LITERATURA CITADA</b>	<b>26</b>



## INDICE DE CUADROS

	PAGINA
CUADRO 1 ANALISIS DE NUTRIENTES PARA LA ALIMENTACION DE BOVINOS	14
CUADRO 2 VOLUMENES DE GAS PRUEBA 1	16
CUADRO 3 VOLUMENES DE GAS PRUEBA 2	16
CUADRO 4 PRUEBA 1, PRODUCCION DE METANO <i>in vitro</i>	17
CUADRO 5 PRUEBA 2, PRODUCCION DE METANO <i>in vitro</i>	17
CUADRO 6 VARIABLES MICROBIOLOGICAS DE GAS <i>in vitro</i> A 72 H. DE INCUBACION	17
CUADRO 7 ANALISIS DE LA DIGESTIBILIDAD <i>in situ</i> EN BOVINO	20
CUADRO 8 ANALISIS DE pH <i>in vitro</i> CON LIQUIDO RUMINAL DE BOVINO	20
CUADRO 9 CONCENTRACION DE NITROGENO AMONIACAL	20
CUADRO CONCENTRACION DE ACIDOS GRASOS VOLATILES	21
CUADRO CONCENTRACION DE BACTERIAS TOTALES	21
11	
CUADRO CONCENTRACION DE PROTOZOARIOS	21
12 TOTALES	

## INDICE DE FIGURAS

		PAGINA
FIGURA 1	VOLUMEN FRACCIONADO DE GAS PRUEBA 1	18
FIGURA 2	VOLUMEN FRACCIONADO DE GAS PRUEBA 2	18
FIGURA 3	VOLUMEN ACUMULADO PRUEBA 1	19
FIGURA 4	VOLUMEN ACUMULADO PRUEBA 2	19

## 1. Introducción

Uno de los problemas que nuestro planeta enfrenta hoy es el calentamiento global debido a un acumulo de gases con efecto invernadero los cuales atrapan el calor en la atmósfera (Soliva y Hess, 2007).

Los rumiantes manipulados nutricionalmente por el hombre son grandes contribuyentes al calentamiento global y a la capa de ozono por las altas liberaciones de gases como el metano (CH<sub>4</sub>) y el gas carbónico. Los principales microorganismos productores de CH<sub>4</sub> en el rumen son las bacterias metanógenas, las cuales utilizan H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> para llevar a cabo esta producción (Carmona *et al.*, 2005).

La producción de CH<sub>4</sub> también está relacionada por factores como la cantidad del consumo de alimento, composición de la dieta, digestibilidad de alimento y frecuencia de alimentación (Bonilla y Lemus, 2012). La producción de CH<sub>4</sub> en rumiantes es una consecuencia inevitable de la fermentación de los carbohidratos en el rumen, pero esta es más favorecida cuando a los animales se les alimenta con forrajes de baja calidad lo cual es muy común encontrar en las áreas tropicales donde a los animales se les alimenta en pastoreo (Delgado *et al.*, 2007).

La producción de CH<sub>4</sub> en la producción animal ha tenido una gran importancia debido a sus impactos negativos en el ambiente (Carmona *et al.*, 2005).

El CH<sub>4</sub> es un GEI es 23 veces más potente que el CO<sub>2</sub>; El CH<sub>4</sub> emitido por el estiércol proviene de la fermentación entérica y digestión anaeróbica de la materia orgánica (Pinos *et al.*, 2012). El CH<sub>4</sub> es emitido por los bovinos principalmente mediante eructos, y menormente a través de la respiración o flatulencias; además que la erucción en animales jóvenes comienza normalmente a partir del primer mes de vida (López *et al.*, 2008). Los sistemas de producción en rumiantes en su mayoría pueden influir en las emisiones de CH<sub>4</sub> (Murray *et al.*, 2007).

Se estima que un bovino adulto produce entre 300 y 600 litros de CH<sub>4</sub> por animal al año, esto presenta aproximadamente 80, 000,000 toneladas al año. Lo cual impacta al ambiente en un 18 y 21% (Galindo, 2009).

Se logrando reducir las emisiones de CH<sub>4</sub> manipulando la alimentación de los rumiantes mediante dietas balanceadas (Febres, 2011).

## **2. Hipótesis**

El uso de nitrato de plata reduce la producción de metano *in vitro*.

## **3. Objetivos**

### **3.1 Objetivo General**

Evaluar el efecto de la adición nitrato de plata sobre la producción de metano *in vitro*.

### **3.2 Objetivos Particular**

Evaluar el efecto de nitratos sobre la producción de metano *in vitro*.

#### **4. Revisión de literatura**

#### **5. Historia y antecedentes**

##### **5.1 La ganadería en México**

La conquista europea de América trajo como consecuencia el arribo de nuevos mamíferos hacia la Nueva España como son vacas, caballos, cerdos, asnos, mulas, cabras y borregos (Barrera, 1996).

Con la conquista de Cortés en 1521 llegaron también las primeras reses a la Nueva España, los animales se reprodujeron con suma rapidez y la carne de bovinos llegó a constituir parte sustancial de la alimentación de la población (Rutsch, 1980).

Antes de la llegada de los españoles a México, los indígenas carecían de animales domésticos, y la multiplicación del ganado bovino fue progresivamente lenta; poco después en la segunda década de la conquista entre los años 1538-1540, se introdujeron una gran cantidad de reses que se utilizarían como tiro en las carretas y labores de campo provenientes de La Habana y Santo Domingo incrementando rápidamente la población animal (SAGARPA, 1998).

La ganadería bovina en México representa una de las principales actividades del sector agropecuario del país, por su contribución en la oferta de productos lácteos y cárnicos (Ferrer *et al.*, 2008). La ganadería bovina productora de carne en México ocupa el lugar diez en el mundo (Mora y Shimada, 2001).

La producción de carne de bovino en el país ha evolucionado tecnológicamente con un sistema de engorda intensivo en el centro y norte del país con ganadería especializada, similares a los utilizados en los estados del medio oeste de E.U.A donde la alimentación se basa solamente en granos. Mientras que las zonas tropicales con sistemas extensivos adoptan estrategias para una mejor producción y conservación de forrajes y así limitar el uso de granos y suplementos alimenticios. Gran parte de la producción animal con rumiantes se hace bajo un sistema de pastoreo donde los forrajes son la principal fuente de alimento (Vargas *et al.*, 2014).

El trabajo para producir carne de bovino sigue siendo una de las actividades fundamentales del sector pecuario nacional debido a la contribución en el valor de la producción con el 38.3% de carne en canal dentro de la oferta de carnes en el país, así como su alta participación comercial en la exportación de becerros (Gallardo, 2006).

Durante los últimos 15 años, el sector ganadero de México ha crecido a un ritmo aproximado de 4% anual (SAGARPA, 2006). Contribuyendo entre el 21 y 24% del Producto Interno Bruto (PIB) agrícola nacional; este crecimiento se ha visto impulsado principalmente por la demanda interna y la actividad ganadera en el país que ocupa aproximadamente 110 millones de hectáreas (García, 2011).

De acuerdo con información del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2009). Veracruz es el principal estado productor de ganado bovino en México, con un volumen de producción de 453.34 mil toneladas esto representa el 14.4% de la producción nacional. Jalisco es el segundo producto con un 11% (347.59 mil toneladas) y Chiapas ocupa el tercer lugar con un 6.2% de la producción nacional (196.03 mil toneladas).

De esta manera entendemos que la producción de ganado en pie representado principalmente por carne de bovino con un volumen de 2, 898, 600 toneladas, seguida por la carne de ave con 2, 835, 200 toneladas y en tercer lugar la producción de porcinos con 1, 377, 000 toneladas. El comportamiento de la producción de carne en canal es diferente al del ganado en pie, debido a la contabilidad de más de un millón de becerros que se exportan a los E.U.A. (Gallardo, 2006).

## **5.2 Sistemas de producción en México**

Un enfoque en cuanto al concepto de un agroecosistema es un ecosistema modificado por el hombre que interactúa con factores socioeconómicos y tecnológicos que sirven para la utilización de los recursos naturales con fines de producción de alimento y beneficios del hombre; por otro lado un sistema de producción bovino es un grupo de plantas y bovinos manejados de manera homogénea, mediante el ámbito de intervenciones como: la selección, reproducción, alimentación y de salud: el cual es controlado por el hombre mediante técnicas y herramientas para la obtención de productos como es el caso de carne y leche (Vilaboa *et al.*,2009).

La ganadería en México presenta una diversidad de sistemas de producción que va desde aquellos que dependen únicamente del forraje de la vegetación nativa como base alimenticia, hasta los sistemas empresariales altamente tecnificados que incluyen animales de alto valor genético, pastos mejorados, alimentos balanceados, prevención y control de enfermedades, inseminación artificial,

informática entre otros (Gamboa *et al.*, 2005).

Una de las actividades del medio rural más diseminadas en México es la ganadería bovina de doble propósito, este sistema está basado en alimentación en pastoreo y utiliza cruce de *Bos Taurus* y *Bos indicus* para producir carne y leche; las vacas se ordeñan una vez al día y las crías son vendidas a los 6-8 meses de edad para la producción de carne (Molina *et al.*, 2010).

En las regiones tropicales de México, es común encontrar sistemas de producción agropecuarias con baja productividad y en proceso de deterioro (Gómez *et al.*, (2002).

Existen varios sistemas de pastoreo que se pueden emplear para usar la biomasa forrajera como la principal fuente de nutrientes y energía para el animal, una de las características de los pastos tropicales es que aumentan rápidamente su eficiencia utilizando agua tanto de la lluvia como la del suelo (Rodríguez *et al.*, 2011).

En México la producción lechera se desarrolla en condiciones de acuerdo a la zona, principalmente con cuatro sistemas: especializado, semiespecializado, familiar y de doble propósito (Lara *et al.*, 2003).

En los últimos 20 años, se ha mantenido latente a nivel internacional, la discusión sobre las estrategias de desarrollo a seguir para transformar la ganadería extensiva hacia una ganadería intensiva que permita contribuir al mejoramiento de los sistemas de producción pecuarios y así mismo la conservación de recursos naturales, mayor eficiencia biológica, económica y de producción de carne y leche y sub productos de origen animal (Gómez *et al.*, 2002).

### **5.3 Alimentación del ganado en México**

Los rumiantes son mamíferos que se han especializado en consumir material vegetal fibroso, que sus enzimas digestivas son incapaces de degradar, pero mediante la fermentación que proporcionan los microorganismos que viven en simbiosis en el rumen, son aprovechados.

La gran capacidad gástrica de los rumiantes es necesaria para mantener los alimentos el tiempo suficiente para ser digeridos; Se asegura que el tiempo de retención de alimento en el rumen se encuentra entre 48 y 60 horas; esta retención provee suficiente tiempo a los microorganismos para degradar eficientemente los alimentos ingeridos. Todo esto es esencial para que el animal

pueda optimizar el nitrógeno y la energía disponible para la síntesis de proteína microbial en el rumen (Estrada, 2011).

En México existen una gran variedad de especies de árboles y arbustivas que tienen gran potencial para ser incorporadas en los sistemas de alimentación en la producción de rumiantes en el trópico (Vera *et al.*, 1999).

El ganado bovino productor de carne en México se explota en su mayoría bajo sistemas de producción en pastoreo (Mejía y Mejía, 2007).

Los sistemas de producción se desarrollan básicamente, bajo pastoreo con monocultivos de gramíneas, generalmente con contenidos nutricionales de regular a baja calidad, principalmente por su alto contenido de fibra y bajos niveles de proteína (Carmona, 2007).

En el trópico existe un amplio conocimiento empírico por parte de los productores acerca del uso de una gran diversidad de especies vegetales forrajeras como alimento animal, pero poco se conoce sobre su calidad nutricional (Pinto *et al.*, 2002).

Los macro y microminerales son indispensables para asegurar la vida y productividad de todas las especies. Es de suma importancia conocer y manipular la presencia de ellos en los forrajes administrados en los sistemas de producción (Cabrera *et al.*, 2009).

El desempeño productivo de una producción está en función del valor nutricional de la dieta que consumen los rumiantes (Posada y Noguera, 2005). Esto va a depender de la época del año, ya que la alimentación en época de sequía es un momento crítico para los sistemas de producción tanto en cantidad como calidad forrajera (Macedo y Palma, 1998).

Los sistemas tropicales extensivos de producción ganadera están siendo forzados aceleradamente a utilizar tecnologías que incrementen su productividad (Botero 1993). Es común que durante la intensificación de una producción agropecuaria se incrementen los flujos de energía y nutrientes y eso lo expone a un proceso de contaminación (Andriulo *et al.*, 2003).

Uno de los objetivos presentes en la nutrición de rumiantes es encontrar y evaluar nuevos alimentos con gran disponibilidad y que garanticen una producción económica, inocua y de calidad (Almaraz *et al.*, 2012).



## **6. Digestión de los alimentos y producción de metano (CH<sub>4</sub>)**

### **6.1 Digestión de los alimentos**

La digestión de los alimentos en rumiantes es un proceso complejo que involucra múltiples interacciones que van desde el consumo, calidad de la dieta, los microorganismos ruminales y el hospedero (Noguera y Posada, 2007).

Sin embargo la degradación de un alimento resulta de fuerzas competitivas que actúan simultáneamente como es el caso de la tasa de pasaje y la tasa de degradación (Bruni y Chilbroste, 2001). En ambientes anaerobios como el rumen, la eficiencia para degradar alimentos está dada por la diversidad microbiana que contiene, como son bacterias, protozoarios, hongos anaerobios y bacteriófagos (Abrego, 2012).

La digestión de dietas ricas en fibra aumenta la producción de hidrogeno y dióxido de carbono que son sustratos para la producción de metano (Gómez *et al.*, 2015).

Es común que una significativa cantidad de las gramíneas empleadas para la alimentación de rumiantes, en ocasiones por efectos ambientales, edad de la planta y baja calidad nutritiva, presenten bajos niveles de ruminal. Por lo cual produce una fermentación microbiana deficiente, cuyo resultado se refleja en un bajo flujo y absorción de nutrientes a la que normalmente requieren los rumiantes. Todo esto ínsita al desarrollo de diversos procesos metabólicos en el rumen lo que promueven la formación de compuestos necesarios para el mantenimiento de la microbiota ruminal donde se puede ver afectada la relación de ácidos grasos volátiles (AGV's) que regulan la producción de hidrógeno y por lo cual como consecuente generación de metano en el rumen (Apráez *et al.*, 2012).

Los rumiantes poseen un sistema digestivo que tiene la capacidad de aprovechar y convertir alimentos fibrosos con altos contenidos de carbohidratos estructurales en alimentos de alta calidad nutritiva como son la carne y la leche. Por otro lado una de las cuestiones de sus características innatas de este mismo sistema digestivo también lleva a la producción de metano, un potente gas con efecto invernadero que contribuye con aproximadamente el 18% del calentamiento global ocasionado por actividades productivas con animales domésticos en unidades de producción superado sólo por el CO<sub>2</sub> (Carmona et

al., 2005). La tasa de CH<sub>4</sub> emitida por los rumiantes domésticos se considera la tercera fuente más grande a nivel mundial (Primavesi *et al.*, 2004).

Cada kilogramo de metano diseminado en el ambiente calienta el planeta veintitrés veces más que la misma masa de CO<sub>2</sub> (Gonzales, 20013).

## 6.2 Producción de metano

Las bacterias productoras de metano constituyen una clase especial en la población del rumen por su papel en la regulación de la fermentación total al eliminar H<sub>2</sub> gaseoso. La reducción de CO<sub>2</sub> con H<sub>2</sub> gaseoso es el método primario por el cual se produce CH<sub>4</sub> en el rumen. Sin embargo, suele aparecer *Methanosarcina barkerii*, un germen metanógeno que utiliza metanol, metilamina y acetato para producir CH<sub>4</sub>. Al mantener baja la concentración de H<sub>2</sub> en el rumen mediante la formación de CH<sub>4</sub>, las bacterias metanógenas promueven el crecimiento de otras especies bacterianas en el rumen y permiten una fermentación más eficaz. Las bacterias metanógenas incluyen: *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobacterium formicicum* y *Methanomicrobium mobile* (Blanco, 1999).

La producción de CH<sub>4</sub> entérico depende de la fermentación ruminal y de los parámetros productivos del animal, tales como peso, ganancia de peso, producción de leche y porcentaje de grasa y/o proteína, así como de las cantidades de alimento y de la microflora ruminal presente en el animal (Zalzano y Bourrillon, 2014).

La producción de metano en rumiantes es el producto de una pérdida de energía metabólica para el animal lo que contribuye a la producción de gases con efecto invernadero (Rodríguez, 2009).

En el rumen, la metanogénesis es un proceso normal que elimina el hidrógeno metabólico, permitiendo que los cofactores reducidos sean reoxidados y permitan una actividad microbiana continua. En el ecosistema ruminal existe una población microbiana que está compuesta por bacterias anaeróbicas y protozoarios junto con los hongos anaeróbicos recientemente descubiertos (Obispo, 1992). La producción de CH<sub>4</sub> es exclusivamente dependiente de bacterias metanogénicas, las cuales son activas solamente en condiciones estrictamente anaeróbicas (Videla *et al.*, 2015).

La principal vía de eliminación de metano es por eructos (López y Newbold,

2007). El porcentaje de CH<sub>4</sub> producido una vez dada la fermentación oscila entre el 15 y 30% de la mezcla total de gases acumulados en el rumen (Gonzales *et al.*, 2007). A partir del desarrollo del rumen y del retículo a un par de semanas del nacimiento de un rumiante estos ya empiezan a producir CH<sub>4</sub>; los microorganismos presentes en este proceso son del dominio Archaea, pertenecientes al reino eucariota con concentraciones que pueden estar en 10<sup>7</sup> y 10<sup>9</sup> por ml de líquido ruminal que entre los dos géneros más populares son *Methanobrevibacter* y *Methanosarcina* (Molina *et al.*, 2013).

Un buen manejo en la alimentación de rumiantes puede proporcionar un mecanismo para reducir las emisiones de metano (Johnson *et al.*, 2007).

Reducir las emisiones de metano en los rumiantes contribuiría a los esfuerzos para controlar las concentraciones atmosféricas de GEI.

Algunas alternativas para reducir la producción de CH<sub>4</sub> incluyen a algunos agentes específicos y el uso de aditivos en la elaboración de dietas (Ribeiro *et al.*, 2015).

Las emisiones CH<sub>4</sub> requieren un esfuerzo global, por lo cual se han implementado diferentes estrategias con el fin de reducir la metanogénesis ruminal, siendo los métodos químicos una opción (Gonzales *et al.*, 2006).

### **6.3 Eliminación de metano**

La ganadería hoy en día está acusada de contaminar el ambiente debido a las altas producciones de metano por parte de los rumiantes; sin embargo estos no son realmente los culpables de dicho problema sino el sistema de alimentación que el hombre ha diseñado en las últimas décadas fundamentalmente en una elevada suplementación con cereales y sistemas de pastoreo con pastos de baja calidad.

Según Galindo *et al.* (2009), al analizar un conjunto de muestras de especies forrajeras observaron que con el aumento del 1% de digestibilidad se producen 4.32 microlitros menos de metano por kilogramo de materia seca consumida (Milera, 2013).

La emisión de CH<sub>4</sub> a la atmósfera varía por las condiciones propias del animal, por la naturaleza de la dieta y por la cantidad de carbohidratos fermentables. Anualmente se producen a nivel mundial 80 millones de toneladas de CH<sub>4</sub>, esta pérdida representa del 5 al 18% de la energía bruta consumida por los rumiantes

(Pellat y González, 2014).

Los gases producidos durante la digestión fermentativa en el rumen como el  $\text{CH}_4$  son eliminados en mayor proporción por el eructo. De hecho, más del 80% del gas es liberado por esta vía y el resto a través de pulmones, mucosa ruminal, abomaso e intestinos. En condiciones normales, el gas producido se acumula en el saco dorsal y craneal del rumen sobre el resto del contenido, líquido y sólido y la tasa de eliminación siempre será mayor a la de producción (Cronje, 2000).

## **7. Nitratos**

### **7.1 Importancia de los nitratos en la reducción de emisiones de $\text{CH}_4$**

Los nitratos ( $\text{NO}_3$ ) y los nitritos ( $\text{NO}_2$ ) son compuestos iónicos que se encuentran en la naturaleza, formando parte del ciclo del nitrógeno. El  $\text{NO}_3$  es la forma estable de las estructuras oxidadas del nitrógeno y a pesar de su baja reactividad química puede ser reducido por acción microbológica (Almudena y Lizaso, 2001).

Las fuentes donde se pueden encontrar nitratos para los animales de forma natural están presentes en: pastos, henos, ensilados, agua de bebida, aceites lubricantes, fertilizantes, etc. Se cree que la inhibición en la producción de metano está dada por un proceso biológico que implica a un aumento en el potencial de óxido reducción en el rumen (Mendoza *et al.*, 2015). La reducción del nitrato a amoníaco, con el nitrito como intermedio, es energicamente más favorable que la reducción del dióxido de carbono al metano y puede competir con la metanogénesis por reducir los equivalentes. (Newbolt *et al.*, 2014).

Los nitratos son agentes promisorios para la reducción de  $\text{CH}_4$  entérico particularmente en dietas que son bajas en proteína (Pierre *et al.*, 20013).

Posiblemente existan otros factores que ayuden a comprender la forma en que el nitrato afecta a la metanogénesis y para ello se requiere abordar el tema de la desnitrificación desde un enfoque distinto tomando como punto de referencia la fisiología de los microorganismos involucrados.

## 7.2 Toxicidad de nitratos

Una de las fuentes principales con alto contenido de nitratos son los vegetales que pueden llegar a contener hasta el 70% en una dieta común, aunque rara vez pueden llegar a contener la cantidad necesaria como para causar efectos tóxicos.

Las plantas absorben más nitratos de los que necesitan, y este excedente no es eliminado tan fácilmente de tal manera que lo acumulan en órganos de tránsito como son: raíces y hojas es por ello que las hortalizas tienen un alto contenido de nitratos (Elika, 2014).

Las plantas con niveles de 6,000 a 10,000 ppm de nitratos en base seca son consideradas altamente letales, considerando también el aporte de nitratos consumidos en el agua (Armendano *et al.*, 2015). La acumulación de nitratos en las plantas ocurre principalmente en épocas de bajas temperaturas ambientales, momento en que la planta presenta poco crecimiento, ocurriendo así la absorción de nitrógeno a mayor velocidad con relación a la producción de materia seca (Mohr, 2013).

Una de la fuente de sobre exposición a los nitratos por lo general es en la ingesta de y alimentos que tienen alto contenido de los mismos, por ejemplo en algunos pozos de agua privados con poca profundidad y de suelos permeables se pueden encontrar concentraciones relativamente altas (ATSDR, 20015).

La aparición de nitratos en aguas subterráneas pueden ser de origen químico, y esto puede ser provocado por los residuos de algunas industrias o por la utilización de fertilizantes orgánicos y sobretodo nitrogenados en áreas agrícolas (Fernández y Vázquez, 2006).

Los nitratos son generalmente indeseables en los piensos que se ofrecen a los rumiantes debido a su alto potencial para producir metahemoglobinemia. El elevado contenido de nitratos es un factor limitante de su empleo ya que puede provocar problemas de salud para los animales (Fernández *et al.*, 2003).

Sin embargo los nitratos han recibido atención por la forma en que al ser un aceptor de electrones en el rumen podría reducir las emisiones entéricas de metano en rumiantes (Lee y Beauchemin, 2014).

### **7.3 Nitratos en la alimentación de rumiantes**

Las fuentes de nitratos disponibles de forma natural para los animales son: pastos, henos, ensilados, agua, aceites, lubricantes fertilizantes etc. En rumiantes las enzimas microbianas convierten al nitrato ingerido a nitrito en el rumen, el nitrito es reducido a amoníaco que se incorpora al conjunto de nitrógeno ruminal y puede ser usado por las bacterias para la síntesis de proteína microbiana (Martínez y Sánchez, 2001).

Los rumiantes son animales capaces de utilizar una gran variedad de fuentes nitrogenadas, gracias a la simbiosis que ocurre con los microorganismos dentro del rumen; la cantidad y velocidad con la que una fuente de nitrógeno es degradada en el rumen depende de las características físico-químicas de dicho compuesto y condiciones en las que se encuentre el medio ruminal (Haro y Haro, 2007). Otro de los órganos importantes a considerar es el hígado ya que cumple un papel clave en el metabolismo de los nitratos (García y Ramos 2011).

Las bacterias del rumen pueden cubrir sus requerimientos proteicos usando amoníaco como única fuente de nitrógeno, sin embargo, cuando estas bacterias se encuentran en el medio ruminal pueden cubrir más del 50% de sus requerimientos de nitrógeno a partir de aminoácidos aportados en la dieta, también se ha demostrado que el crecimiento bacteriano es más rápido cuando la fuente de nitrógeno proviene de proteínas y no de nitrógeno no proteico (NNP) (Relling y Mattioli, 2002).

### **7.4 Nitrato de plata**

El nitrato de plata es un compuesto inorgánico, con la fórmula química  $\text{AgNO}_3$ . Este compuesto es un precursor versátil para muchos otros compuestos de plata. Fue descubierto por Alberto Magnus, en el siglo 13, al documentar que el ácido nítrico era útil para separar el oro de la plata mediante la disolución de la esta. Magnus señaló que la solución resultante de nitrato de plata puede manchar la piel. Su nombre común en esa época era la plata de ácido nítrico (Loor, 2012). El nitrato de plata es tóxico en concentraciones por arriba de los 2g; La sobre exposición a animales puede causar efectos tales como: daños renales, oculares, pulmonares, hepáticos y cerebrales así como anemia. Al nitrato de plata se le han dado varios usos desde la industria hasta su uso médico como bactericida en dosis ajustadas. El metabolismo de la plata en hombres y

animales no ha sido enteramente estudiado debido a la baja absorción y su insolubilidad, ya que es absorbida en bajas cantidades por la mucosa del intestinal (Rodríguez y Gutiérrez, 2007).

## **8. Materiales y Métodos**

El análisis se realizó en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal (CENIDFyMA) Ajuchitlan, Querétaro.

### **8.1 Técnica de gas *in vitro*.**

Se utilizaron 0.5 g de cada muestra colocándolas en frascos de 125 ml color ámbar. A cada frasco se le aplicó 81 ml de Solución Mineral Reductora, y 9 ml de inóculo ruminal con burbujeo continuo de Dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), el cual se retiró y se le colocó un tapón de goma posteriormente fue sellado con un aro metálico. Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos, cada uno con los siguientes porcentajes de inclusión de Nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ); 0, 1, 2 y 3 % y se realizaron por triplicado, en una dieta que contiene los requerimientos nutricionales diarios por animal (Cuadro1). El líquido se extrajo de dos bovinos con fistula ruminal, posteriormente se a filtro con una tela de gasa doblada ocho veces. Se colocaron los frascos en un baño María durante 72 h a 39 °C, y se tomaron mediciones de presión con un manómetro provisto de una llave trifásica y aguja hipodérmica, la presión de gas originada por la fermentación del sustrato se midió con una escala de 0 a 1 kg  $\text{cm}^2$ , a las 0, 2, 4, 6, 8, 12,16, 20, 24,30, 36, 42,48, 60, 72 h. Al término de las mediciones, se tomaron muestras para la determinación de ácidos grasos volátiles (AGV), bacterias, protozoarios, pH,  $\text{CH}_4$ , materia seca y materia orgánica. Las muestras se filtraron con una bomba de vacío. Una vez filtradas las muestras se metieron a una estufa a 60°C durante 24 h. para secarlas y obtener el peso seco. Los datos se procesaron en hoja de análisis estadístico. La comparación de medias se realizaron mediante la prueba de rango múltiple de Tukey ( $P>0.05$ ). Todo lo anterior se realizó con el paquete estadístico SAS (2009).

Cuadro 1. Análisis de nutrientes para la alimentación de bovinos.

E.M (MC/KG)	2.398	E.D (MC/KG)	2.773
E.N (MC/KG)	1.057	T.N.D (%)	63.854
PROTEINA (%)	18	F.D.A (%)	14.801
F.N.D (%)	30.101	FIBRA (%)	12.268
FORRAJE (%)	18	CALCIO (%)	0.344

### 8.2 Digestibilidad *in situ*.

Se emplearon bolsas de nylon (15.0x7.5 cm; tamaño de poro 52±10mm) con 2 g de sustrato para cada tratamiento con una malla de 2 mm. Se colocó una bolsa con la dieta por animal dentro del rumen por 0, 6,12, 24, 48 y 72 h, y se retiraron en orden inverso. Después se lavaron con agua hasta que el afluyente se tornó claro. Las bolsas se secaron a temperatura ambiente después se metieron en una estufa de aire forzado a 55°C. Se midió el contenido por duplicado de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácida (FDA), AGV, bacterias, protozoarios, pH, CH<sub>4</sub>. Se tomaron muestras de líquido ruminal a las 0, 6, 12, 24, 48 y 72h. Se midió el pH y filtraron las muestras, se conservaron con ácido metafosfórico al 25% (v/v) y se conservaron a -4°C para posteriormente medir el contenido de AGV por cromatografía de gases (Erwin et al., 1961). Los resultados se analizaron de acuerdo con un cuadro latino con arreglo factorial de tratamientos (SAS, 1995).

### 8.3 pH ruminal.

Esta determinación se realizó inmediatamente de haber colectado el líquido ruminal con un potenciómetro marca Orion modelo 710A, calibrado a dos valores de pH (4.0 y 7.0), respectivamente (ORION, 1996).

### 8.4 Concentración de nitrógeno amoniacal.

Se utilizó la técnica de McCulloch (1967). El líquido ruminal que fue colectado se acidificó con ácido metafosfórico, la muestra se centrifugó a 20817.16 fuerzas G durante cinco min y del sobrenadante se colectó 3.0 ml y se depositó en viales de plástico. Para su lectura se tomaron 20 µL que se depositaron en tubos de 18 x 130 mm a los cuales se les adicionó 1.0 ml de fenol y 1.0 ml de hipoclorito de sodio basificado con hidróxido de sodio. Los tubos fueron puestos en incubación



a 39°C durante 30 min y posteriormente se agregó 5.0 ml de agua destilada para diluir la muestra. La concentración de nitrógeno amoniacal se midió por absorbancia en un espectrofotómetro marca Perkin Elmer UV-VIS modelo Lambda 40 a 630 nm. Se utilizó un blanco como referencia, el cual contenía 1.0 ml de fenol, 1.0 ml de hipoclorito de sodio y 5.0 ml de agua destilada. Para conocer la concentración final de nitrógeno amoniacal, se realizó una comparación con una curva estándar.

### **8.5 Concentración de ácidos grasos volátiles (AGV)**

La producción de AGV se determinó una vez acidificado el líquido ruminal con ácido metafosfórico con una proporción de 4:1 de muestra: ácido metafosfórico respectivamente. La muestra fue centrifugada a 20817.16 fuerzas G durante 15 min y se colectaron el sobrenadante (1.5 ml). La concentración de AGV de las muestras se determinó por cromatografía de gases (Erwin *et al.*, 1961), en un cromatógrafo Perkin Elmer, Modelo Claurus 500 con columna capilar Elite FFAP. El gas acarreador que se utilizó fue hidrógeno con flujo de 15 ml min<sup>-1</sup>. Se inyectó 1 µL de muestra, con temperatura de inyector de 200°C, detector de 250°C y una temperatura de horno de 140°C por 5 min.

### **8.6 Concentración de bacterias totales**

Las concentraciones fueron calculadas utilizando la técnica del recuento directo en microscopio a través de la cámara de Petroff-Hausser (Parthnership® modelo SQMM Horsham PA 19044). El conteo se realizó en 10 cuadros (0.05 x 0.05), elegidos al azar utilizando un microscopio de contraste marca Olimpos® modelo BX51, lente objetivo 100 x, contraste ph3 y filtro de luz azul. El procedimiento fue realizado de acuerdo a lo descrito en el manual de operación Sigma (1990).

### **8.7 Concentración de protozoarios**

Se utilizó una cámara de Neubauer y un microscopio Zeiss a una magnificación de 40X. Como no se requieren protozoarios viables, se diluyó el líquido ruminal en solución para conteo (5 ml de solución mineral I + 5 ml de solución mineral II + 3 ml de formaldehído al 3% aforadas a 87 ml con agua destilada) (Dehority, 1984).

Concentración de protozoarios = (Promedio) (Factor de dilución) (10<sup>4</sup>).

## 9. Resultados

Cuadro 2. Volúmenes de gas prueba 1.

tratamientos	V	F.r	F.m	F.i	S (h <sup>-1</sup> )	L (h)	DIMS 1 <sup>er</sup> corrida
0%	257.53 a	128.745 a	121.03 a	7.72 c	0.0433 a	5.0793 b	94.74 a
1%	266.23 a	128.70 a	128.00 a	9.50 b	0.0423 ab	5.1897 b	82.38 a
2%	271.67 a	126.591 a	133.60 a	11.47 a	0.0406 b	5.3363 ab	80.51 a
3%	255.73 a	116.372 a	127.94 a	11.41 a	0.0413 ab	5.7903 a	81.55 a

<sup>a, b, c</sup>= Mediadas con las literales diferentes en la misma columna indican diferencias ( $P < 0.05$ ).

V= gas máximo, F.r= Volumen de gas acumulado de 0-16h, F.m= Volumen de gas acumulado de 16-48h, F.i= Volumen de gas acumulado de 48-72h, S= Tasa de producción de gas, L= Fase lac, DIMS= Digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

Cuadro 3. Volúmenes de gas prueba 2.

tratamientos	V	F.r	F.m	F.i	S (h <sup>-1</sup> )	L (h)	DIMS 2 <sup>da</sup> corrida
0%	260.37	120.22	129.34	10.78	0.0406	5.4813	82.20
1%	256.83	118.51	127.63	10.64	0.0406	5.5733	78.47
2%	244.77	112.89	121.65	10.23	0.0406	5.360	80.96
3%	249.43	114.30	124.12	11.03	0.040	5.4880	77.67

Las medidas no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

V= gas máximo, F.r= Volumen de gas acumulado de 0-16h, F.m= Volumen de gas acumulado de 16-48h, F.i= Volumen de gas acumulado de 48-72h, S= Tasa de producción de gas, L= Fase lac, DIMS= Digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

Cuadro 4. Prueba 1, producción de metano *in vitro*.

Tratamientos	V	CH <sub>4</sub> 6	Ch <sub>4</sub> 12	CH <sub>4</sub> 18	CH <sub>4</sub> 24
0%	257.53 a	0 b	7.5 a	3 a	3 a
1%	266.23 a	0 b	6.5 ab	3 a	3.5 a
2%	271.67 a	4 a	3.5 c	3 a	4.25 a
3%	255.73 a	3 a	5 bc	3.5 a	4 a

a, b, c= Medias con las literales diferentes en la misma columna indican diferencias (P < 0.05).

V= volumen de gas máximo, CH<sub>4</sub> 6= producción de metano a las 6h, CH<sub>4</sub> 12= producción de metano a las 12h, CH<sub>4</sub> 18= producción de metano a las 18h, CH<sub>4</sub> 24= producción de metano a las 24h.

Cuadro 5. Prueba 2, producción de metano *in vitro*.

Tratamientos	V	Ch <sub>4</sub> 6	CH <sub>4</sub> 12
0%	260.37	4	4.5
1%	256.83	3.5	4.5
2%	244.77	5	3.5
3%	249.43	3	3.5

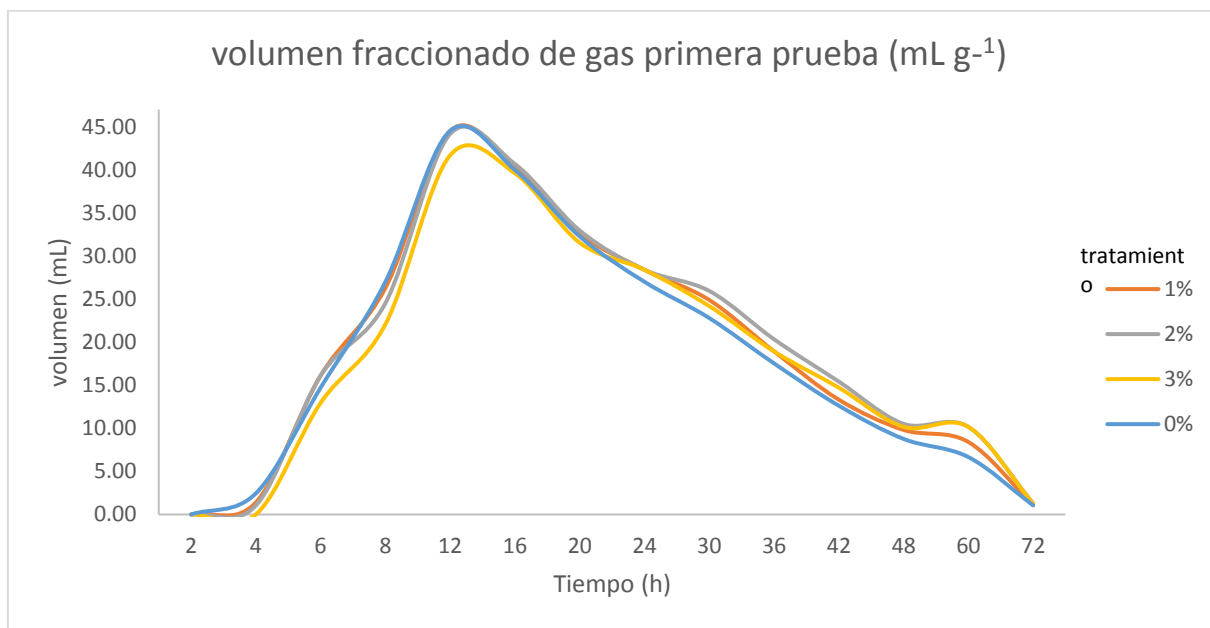
Las medidas no son significativamente diferentes (p>0.05).

V= volumen de gas máximo, CH<sub>4</sub> 6= producción de metano a las 6h, CH<sub>4</sub> 12= producción de metano a las 12h.

Cuadro 6. Variables microbiológicas de gas *in vitro* a 72 h de incubación con líquido ruminal de bovino.

Variable	AgNO <sub>3</sub> (%)				EEM
	0	1	2	3	
N-NH <sub>3</sub> , mg/dL <sup>-1</sup>	9.26 <sup>b</sup>	10.15 <sup>b</sup>	13.26 <sup>a</sup>	14.47 <sup>a</sup>	1.28
Bacterias totales (10 <sup>10</sup> mL <sup>-1</sup> )	4.25	3.91	3.98	3.56	0.89
Protozoarios (10 <sup>5</sup> mL <sup>-1</sup> )	2.75 <sup>b</sup>	29.7 <sup>a</sup>	3.08 <sup>a</sup>	2.86 <sup>a</sup>	0.56

a, b = Medias con literales diferentes en una hilera, son diferentes (p<0.05).



La figura 1, primera prueba muestra el volumen fraccionado de gas de las 2 a 72 h. de cuatro tratamientos con nitrato de plata.

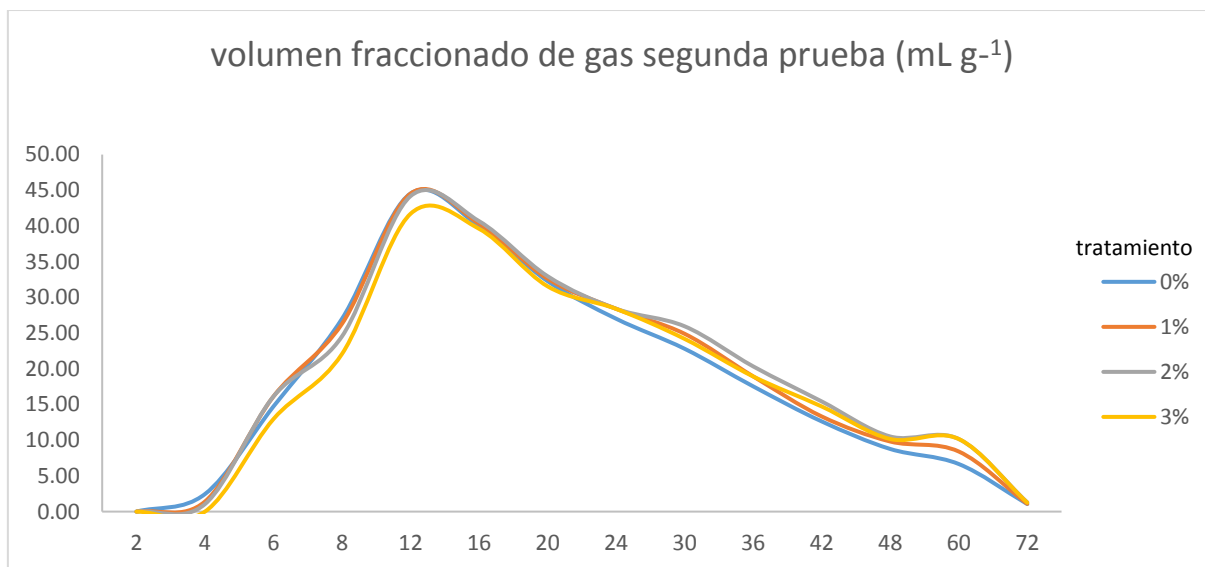


Figura 2. Segunda prueba, producción fraccional de gas de cuatro tratamientos con nitrato de plata.

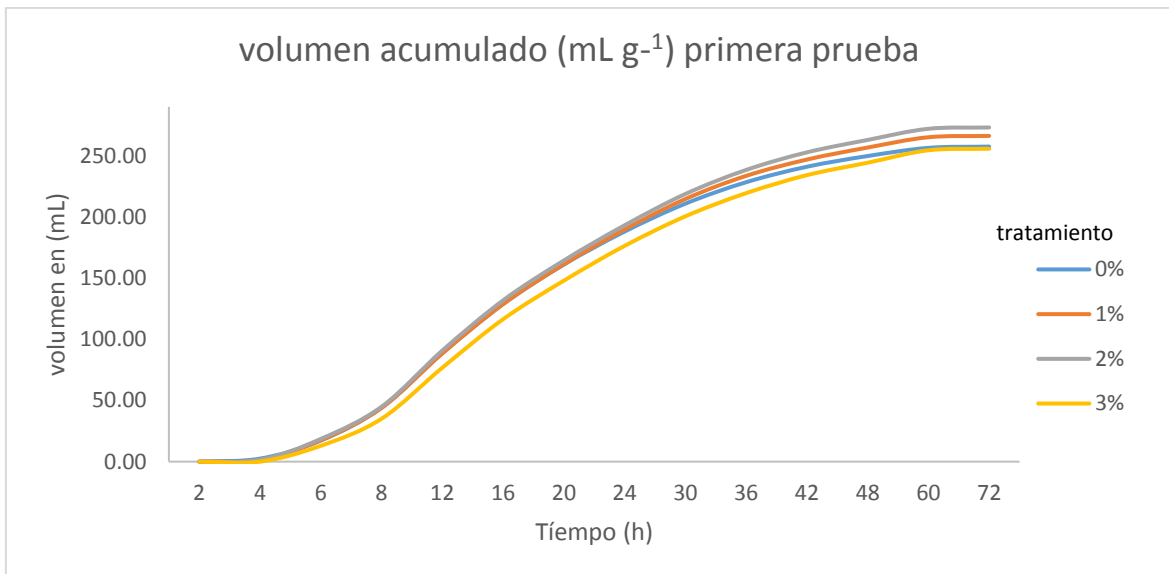


Figura 3. Primera prueba, producción acumulada de gas de fermentación de cuatro tratamientos con nitrato de plata.

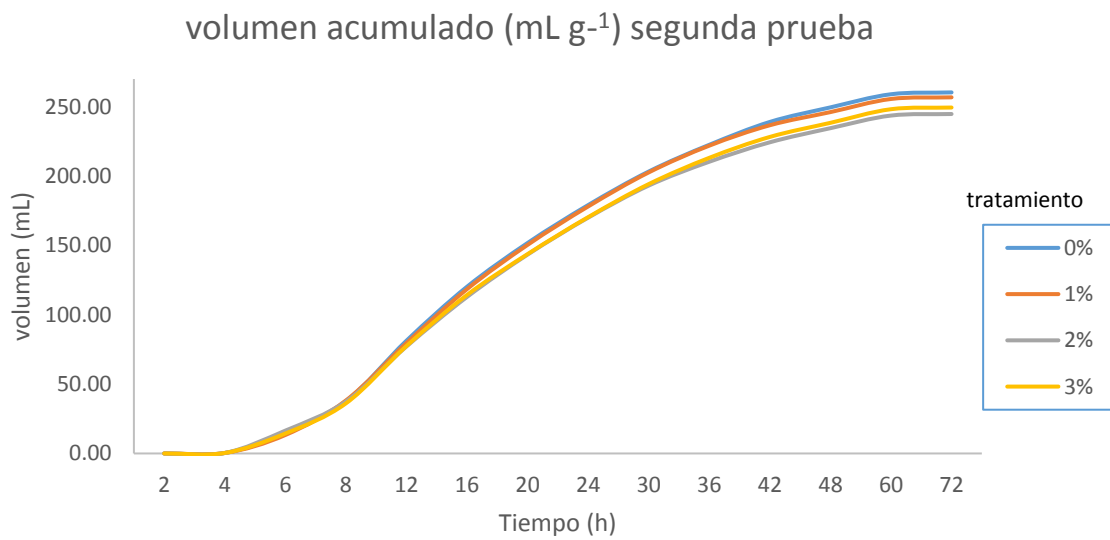


Figura 4. Segunda prueba, producción acumulada de gas de fermentación de cuatro tratamientos con nitrato de plata.

Cuadro 7. Análisis de la digestibilidad *in situ* en bovino.

Tratamiento	6h	12h	24h	48h	72h
0%	48.100	57.243	72.720	63.50	79.49
1%	46.663	56.637	63.937	75.12	67.55
2%	47.267	56.397	65.453	72.97	78.34
3%	47.077	54.043	65.733	60.62	64.83

Las medidas no son significativamente diferentes ( $p>0.05$ ).

Cuadro 8. Análisis de pH *in vitro* con líquido ruminal de bovino.

Tratamientos	pH
0%	6.3750
1%	6.3600
2%	6.3500
3%	6.3700

Las medidas no son significativamente diferentes ( $p>0.05$ ).

Cuadro 9. Concentración de nitrógeno amoniacal ( $\text{mg dL}^{-1}$ ) en líquido ruminal de bovino *in vitro*.

Horarios (h)	AgNO <sub>3</sub> (%)				EEM
	0	1	2	3	
12	12.56 <sup>b</sup>	13.44 <sup>b</sup>	18.20 <sup>a</sup>	16.92 <sup>a</sup>	1.78
24	22.52 <sup>b</sup>	25.15 <sup>ab</sup>	28.26 <sup>a</sup>	27.59 <sup>a</sup>	3.01

a, b, c = medias con literales diferentes en una hilera, son diferentes ( $p<0.05$ ).

Cuadro 10. Concentración de ácidos grasos volátiles (mM) en líquido ruminal de bovino *in vitro*.

Horarios (h)		AgNO <sub>3</sub> (%)				EEM
		0	1	2	3	
12	acetato	36.56	33.29	34.20	33.58	3.78
	propionato	21.36 <sup>b</sup>	25.34 <sup>ab</sup>	28.33 <sup>a</sup>	26.32 <sup>b</sup>	2.58
	butirato	8.25 <sup>ab</sup>	10.54 <sup>a</sup>	9.69 <sup>a</sup>	9.11 <sup>a</sup>	1.17
24	acetato	56.88	52.88	55.3	55.88	4.01
	propionato	27.41 <sup>b</sup>	29.25 <sup>ab</sup>	31.25 <sup>a</sup>	28.15 <sup>b</sup>	3.15
	butirato	9.11 <sup>b</sup>	14.25 <sup>a</sup>	13.96 <sup>a</sup>	14.01 <sup>a</sup>	2.18

<sup>a, b</sup> = medias con literales diferentes en una hilera, son diferentes ( $p < 0.05$ ).

Cuadro 11. Concentración de bacterias totales ( $10^{10}$  mL<sup>-1</sup>) en líquido ruminal de bovino *in vitro*.

Horarios (h)	AgNO <sub>3</sub> (%)				EEM
	0	1	2	3	
12	3.19	2.97	2.96	2.7	0.29
24	2.39	2.79	2.35	2.91	0.23

Las medias no son diferentes ( $p < 0.05$ ).

Cuadro 12. Concentración de protozoarios totales ( $10^5$  mL<sup>-1</sup>) en líquido ruminal de bovino *in vitro*.

Horarios (h)	AgNO <sub>3</sub> (%)				EEM
	0	1	2	3	
12	1.11	0.54	2.56	2.05	0.71
24	4.05 <sup>a</sup>	2.52 <sup>ab</sup>	2.05 <sup>ab</sup>	1.09 <sup>b</sup>	0.23

<sup>a, b</sup> = medias con literales diferentes en una hilera, son diferentes ( $p < 0.05$ ).

## 10. Discusión

Los resultados obtenidos en el cuadro 2 y 3, expresan que en la producción de volumen acumulado de gas de las 0-16 y 16-48h no hay diferencias estadísticas significativas ( $p>0.05$ ), mientras que en la concentración de volumen acumulado de 48-72h existió diferencias estadísticas significativas ( $p<0.05$ ) para los tratamientos con 0 y 1% de nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) de la prueba 1, se considera que la cantidad de gas producido *in vitro* es reducida con la adición de un contenido de nitrógeno (Fondevila *et al.*, 2002; Ngoc Huyen *et al* 2010). Para la DIMS no hubo diferencias estadísticas ( $p>0.05$ ), en ninguna de las pruebas, Owens y Zinn (1980), indican que el uso de compuestos nitrogenados de lenta liberación no afecta la digestibilidad de los nutrientes en las dietas, pero que esto dependerá de las características de cada ración. En el cuadro 4, Los resultados de producción de metano *in vitro*, mostraron diferencia significativa ( $p<0.05$ ), en la disminución de metano a las 12 hrs, con los niveles de  $\text{AgNO}_3$  1 y 2%; según Newbolt *et al.*, (2014), La producción de metano disminuye linealmente a medida que la concentración de nitratos aumenta, sin embargo, Noguera *et al* (2016) al utilizar nitrato de calcio en niveles superiores al 3% los resultados se mostraron a partir de las 24h. En el cuadro 5, ( $p>0.05$ ), no hay diferencias en ninguno de los tratamientos de producción de metano *in vitro*, La causa más probable de la ineficiencia en la mitigación de metano es la reducción incompleta de nitrato a nitrito o nitrito a amoníaco (Newbolt *et al.*, 2014), sería riesgoso utilizar niveles superiores de nitratos al 3% ya que puede tener efectos adversos sobre la salud animal (Marais *et al* 1988), Aunque el potencial de toxicidad de los nitratos se puede reducir mediante la adaptación de los animales al consumo de nitrato, es necesario que el procedimiento de adaptación a los nitratos se estandarice (Lee y Beauchemin, 2014). En el cuadro 6 de variables microbiológicas, los tratamientos de 0 y 1% y se mostraron un aumento en el nitrógeno amoniacal en los niveles de 2 y 3% de  $\text{AgNO}_3$ . Según Frace *et al.*, (2005), un incremento en la concentración de nitrógeno amoniacal podría atribuirse a la lenta liberación del nitrato, favoreciendo la síntesis de energía disponiendo de nitrógeno amoniacal para la síntesis de proteína, en la concentración de bacterias totales no se encontraron diferencias en ninguno de los tratamientos, así mismo los resultados para protozoarios solo se obtuvo diferencia en el tratamiento del 0%. Cuadro 7, para el análisis de digestibilidad *in situ* ( $p>0.05$ ), no hay diferencias en ninguno



de los cuatro tratamientos con  $\text{AgNO}_3$  en los horarios de 6, 12, 24, 48 y 72 h. Vik-Mo y Lindberg (1985), refiere que la concentración de nitratos en la ración ha demostrado diferentes efectos sobre la digestibilidad *in situ* de los alimentos, mientras que Cerrilla y Jáuregui (1993), demuestran que la concentración de nitrógeno en el rumen carece de efectos sobre la desaparición *in situ* de la materia seca.

En el cuadro 8, No se encontraron diferencias significativas en ninguna de las medidas de pH ( $p > 0.05$ ), la dependencia de pH de las bacterias metanógenas, aporta un factor importante para la predicción en producción de metano (Carmona., *et al* 2005). Van Kessel y Russell (1995), observaron que la producción de metano disminuyó drásticamente cuando el pH era menor a 6.5 y no se produjo a pH menor a 6. Los resultados obtenidos en la concentración de nitrógeno amoniacal mostro ( $p < 0.05$ ) (Cuadro 9), para el horario de 12 y 24 h, de obteniendo el un aumento en estas concentraciones a las 24h, Ungerfeld y Kohn (2006), concuerdan que un aumento en las concentraciones de nitrógeno amoniacal está dada por la adición de nitratos en el medio, Mientras que Moore *et al* (1992), observaron que una disminución en la concentración de nitrógeno amoniacal se atribuye a la utilización de nitrógeno amoniacal para la síntesis bacteriana. Cuadro 10. En esta prueba se encontró ( $p > 0.05$ ), en la concentración de ácidos grasos volátiles en los tratamientos con 1 y 3% en ambos horarios, con una producción más alta de acetato seguida de propionato y butirato. Van Kessel y Russell (1995), Indican que cuando sustancias son reducidas transferidas de bacterias ruminales fermentadoras de carbohidratos a bacterias metanógenas, el acetato tiende a incrementarse y el propionato a disminuir; cuando el acetato predomina no se considera precursor significativo de metano en el rumen, en cambio Li y Powers (2012), muestra que la disminución en las concentraciones de propionato y butirato a partir de las 12 h de incubación indican que el nitrato puede ser rápidamente reducido en el medio, consumiendo el Hidrogeno necesario para la formación de estos ácidos grasos. Los resultados obtenidos en la concentración de bacterias totales no hubo diferencia significativa (cuadro 11), en ninguno de los tratamientos, el uso de nitratos inhibe la conversión del azufre orgánico e inorgánico en el medio, reduciendo así mismo los intermediarios de azufre requeridos por las bacterias para su crecimiento y

multiplicación (Noguera *et al.*, 2016). Cuadro 12. Para el horario de 12h exhibió ( $p>0.05$ ), en los tratamientos, mientras que en el horario de 24h si tuvo diferencias ( $p<0.05$ ), en los tratamientos con 1, 2 y 3% con  $\text{AgNO}_3$ . Carmona (2007), menciona que un agente capaz de disminuir la población de protozoarios ruminales, mejora la respuesta productiva de los rumiantes, por otro lado, Galindo *et al* 2011, ha demostrado que las bacterias metanogenicas viven de manera endosimbiotica sobre la superficie de los protozoos y cualquier factor que disminuya la población protozoaria será capaz de reducir los metanogenos así como la producción de metano.

Para la figura 1, muestra un inicio en la producción de gas fraccionado a las 4h, seguida de un mayor volumen fraccional en el horario de 12 el cual corresponde al tratamiento con 0% de  $\text{AgNO}_3$ , mientras que el tratamiento con 3% presento menos volumen fraccionado de gas a las 12 h, Para la figura 2, muestra de igual manera un inicio en la producción fraccional de gas a las 4h mientras que el tratamiento con 0% de  $\text{AgNO}_3$  se muestra con una mayor producción de gas a las 12h y una curva menor, varios autores reportan que la composición química de los forrajes tienen un efecto sobre el gas producido (Rivera *et al.*, 2013). Nsahlai *et al* 1995, dice que la producción de gas está relacionada con la degradación de la fibra detergente neutro, sin embargo, no siempre se puede darse este efecto (Giraldo *et al.*, 2006). En las figuras 3 y 4. la producción acumulada de gas de fermentación de cuatro tratamientos con  $\text{AgNO}_3$  muestran un inicio en la fermentación a las 4h y al tratamiento con 2% con una mayor fermentación, para la figura 4, la fermentación inicia de igual manera a las 4h de haber iniciado la prueba y se muestra al tratamiento con 0% de  $\text{AgNO}_3$  con una mayor fermentación, Getachew *et al* (2004), indica que la velocidad a la que diferentes componentes son fermentados se debe a un reflejo del crecimiento microbiano y la accesibilidad por parte de estos a la alimentación. Sommart *et al* 2000, hace mención que el volumen de gas es un parámetro para predecir la degradabilidad, el producto final de la fermentación y la síntesis de proteína microbiana de un sustrato por los microbios del rumen. La cuantificación de la producción de gas juega un papel importante que permite conocer y analizar el valor nutritivo de los alimentos, la velocidad a la que estos componentes químicos son digeridos y la extensión de la digestión (Rivera *et al.*, 2013).

## **11. Conclusión**

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que el uso de nitrato de plata si reduce la producción de metano *in vitro*, además, se observó una disminución mayor a las 6 y 12 h, utilizando porcentajes de 1 y 2 %, el nitrato de plata no afecta la digestibilidad *in vitro* e *in situ* y puede ser una opción más en el uso de nitratos como aditivo en la alimentación de rumiantes para disminuir las emisiones de gases de efecto invernadero.

## 12. Literatura citada

1. Abrego, García. A. (2012). Evaluación de una bacteria ruminal acetogénica en la producción de metano in vitro. pp.8-12.
2. Agencia para sustancias tóxicas y registro de enfermedades (ATSDR). (2015). Resumen de salud pública Nitrato y Nitrito. Departamento de salud y servicios humanos de los EE.UU. pp1-8.
3. Aguiar-Zalzano, E., & Rojas-Bourrillón, A. (2014). Métodos utilizados para reducir la producción de metano endógeno en rumiantes. *Nutrición Animal Tropical* Vol. 8 Núm. 2.
4. Almaraz, I., Losada, H., Cortés, J., Vargas, J., Miranda, L., & Sánchez, J. (2012). Producción de gas in vitro de desechos de verduras usados para alimentar vacas lecheras. *Lives Res Rural Develop*, 24(8).
5. Almudena, A. Lizaso, J. (2001). Nitritos, Nitratos y Nitrosaminas. *Fundación ibérica para la seguridad alimentaria*. n1. pp.225.
6. Andriulo, A., Sasal, C., Améndola, C., & Rimatori, F. (2003). Impacto de un sistema intensivo de producción de carne vacuna sobre algunas propiedades del suelo y del agua. *Revista de investigaciones agropecuarias*, 32(3), 27-56.
7. Apráez, J. E., Delgado, J. M., & Narváez, J. P. (2012). Composición nutricional, degradación in vitro y potencial de producción de gas, de herbáceas, arbóreas y arbustivas encontradas en el trópico alto de Nariño. *Livestock Research for Rural Development*, 24(44).
8. Araiza-Rosales, E.; Delgado-Licon, E. Carrete-Carreón, F. O.; Medrano-Roldán, H.; Solís-Soto, A. Murillo-Ortiz, M. y Haubi-Segura, C. (2013). Degradabilidad ruminal in situ y digestibilidad in vitro de diferentes formulaciones de ensilados de maíz-manzana adicionados con melaza, 79-96.
9. Armendano, J., Schild, C., Diaz Florez, I., Liboreiro, M., Lagleyze, B., Cora, J., & Fernández, E. (2015). Presunta intoxicación por nitratos/nitritos en bovinos consumiendo raigrás anual (*Lolium multiflorum*): reporte de un caso en provincia de buenos aires.

10. Barrera Bassols, N. (1996). Los orígenes de la ganadería en México. n.44. pp.14-27.
11. Blanco, J., Álvarez, A., & Morgan, H. O. (2011). Contribución de la ganadería a las emisiones de gases de efecto invernadero. Reseña bibliográfica. Ciencia y tecnología ganadera, 5(1).
12. Blanco, M., & Rivera, E. O. (1999). Bacterias Ruminales. Revista de Medicina Veterinaria, 4(7), 18-24.
13. Bonilla Cárdenas J.A, Lemus Flores, C. Cárdenas, J. A. (2012). Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático. Revista mexicana de ciencias pecuarias, 215-246.
14. Botero Botero, R. (1993). Estrategias para la alimentación de rumiantes con forrajes tropicales en sistemas de producción sostenible. pp.2-20.
15. Bruni, M. D. L. A., & Chilbroste, P. (2001). Artículo Invitado: Simulación de la digestión ruminal por el método de la producción de gas. Arch. Latinoam. Prod. Anim, 9, 43-51.
16. Cabrera Torres, E. J., Sosa Rubio, E. E., Castellanos Ruelas, A. F., Gutiérrez Baeza, Á. O., & Ramírez Silva, J. H. (2009). Comparación de la concentración mineral en forrajes y suelos de zonas ganaderas del estado de Quintana Roo, México. Veterinaria México, 40(2), 167-179.
17. Cambra-López, M., P. García Rebollar, F. Estellés, A. Torres. (2008). Estimación de las emisiones de los rumiantes en España: el factor de conversión de metano. v17.89-101.
18. Carmona Agudelo, J. C. (2007). Efecto de la utilización de arbóreas y arbustivas forrajeras sobre la dinámica digestiva en bovinos. Revista Lasallista de investigación, 4(1), 40-50.
19. Carmona, J. C., Bolívar, D., & Giraldo, L. A. (2005). El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 18(1), 49-63.
20. Castro, H. G., Tewolde, A. M., & Toral, J. N. (2002). Análisis de los sistemas ganaderos de doble propósito en el centro de Chiapas, México. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal, 10, 175-183.

21. Cerrilla, M. E. O., & Jauregui, M. E. C. (1993). Factores que afectan la digestibilidad in situ de los alimentos en el rumen. *Veterinaria México*, 24(1), 55-60.
22. Chalate-Molina, H., Gallardo-López, F., Pérez-Hernández, P., Lang-Ovalle, F. P., Ortega-Jiménez, E., & Vilaboa, A. J. (2010). Características del sistema de producción bovinos de doble propósito en el estado de Morelos, México. *Zootecnia tropical*, 28(3), 329-339.
23. Cronjé, P.B. (2000). *Apuntes Fisiología Metabólica de los Rumiantes*. Ed. CABI.
24. De Miguel-Fernández, C., & Vázquez-Taset, Y. M. (2006). Origen de los nitratos (NO<sub>3</sub>) y nitritos (NO<sub>2</sub>) y su influencia en la potabilidad de las aguas subterráneas. *Minería & Geología*, 22(3), 9.
25. Delgado, D. C., González, R., Galindo, J., Cairo, J., & Almeida, M. (2007). Potencialidad de *Trichantera gigantea* y *Morus alba* para reducir la producción ruminal de metano in vitro.
26. Estrada, Álvarez, J. (2011). Estrategias de incorporación de porcinoza en ensilajes para suplementación de bovinos. Facultad de ciencias agropecuarias universidad de caldas. pp.23-26.
27. Febres, O. A. (2011). Los bovinos al pastoreo contribuyen más al calentamiento global. *Innovación y tecnología en la ganadería doble propósito*, 378-387.
28. Fernández, B., Hervás, G., Giráldez, F. J., Frutos, P., & Mantecón, Á. R. (2003). Ingestión voluntaria y fermentación ruminal de paja tratada con diferentes niveles de extracto vegetal orgánico de remolacha (vinaza). Pp.753-755.
29. Fondevila, M., Nogueira-Filho, J. C. M., & Barrios-Urdaneta, A. (2002). In vitro microbial fermentation and protein utilisation of tropical forage legumes grown during the dry season. *Animal feed science and technology*, 95(1), 1-14.
30. Frace, J., Lopez, S., Kebreab, E., Bannink, A., Dhanoa, M. S., & Dijkstra, J. (2005). A general compartmental model for interpreting gas production profiles. *Animal Feed Science and Technology*, 123, 473-485.
31. Fundación vasca para la seguridad agroalimentaria (elika). (2014). Nitratos. pp.1-5.

32. Galindo, J., González, N., Delgado, D., Sosa, A., González, R., Torres, V., & Cairo, J. (2009). Efecto del aceite de coco en la población de bacterias metanogénicas y su relación con otros grupos microbianos del rumen en condiciones in vitro. *Rev. Cubana Cienc. Agríc*, 43, 135.
33. Galindo, J., González, N., Sosa, A., Ruíz, T., Torres, V., Aldana, A., ... & Noda, A. (2011). Efecto de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray (Botón de oro) en la población de protozoos y metanógenos ruminales en condiciones in vitro. *Rev. Cubana Cienc. Agríc*, 45, 33-37.
34. Gallardo, N. J. L., Luna, E. M., & Albarrán, M. D. (2006). Situación actual y perspectiva de la producción de carne de bovino en México 2006. Coordinación General de Ganadería. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
35. Gamboa-Mena, J. V., Magaña-Magaña, M. A., Rejón-Ávila, M., & Martínez, V. P. (2005). Eficiencia económica de los sistemas de producción de carne bovina en el municipio de tizimín, yucatán, México [economic efficiency of beef production systems in tizimin, yucatan, MÉXICO. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 5, 79-84.
36. García, Flores .R. A. & Ramos, Sosa. R. A. (2011). Alimentación de vacas lecheras con dietas basadas en ensilado elaborado con mezcla de canavalia (*canavalia ensiformis*) y sorgo (*sorghum bicolor*) y su efecto en la producción, eficiencia en el uso de nutrientes y rentabilidad. Universidad del salvador. Pp.16-20.
37. Getachew, G., DePeters, E., & Robinson, P. (2004). In vitro gas production provides effective method for assessing ruminant feeds. *California Agriculture*, 58(1), 54-58.
38. Giraldo, L. A., Gutiérrez, L. A., Sánchez, J., & Bolívar, P. A. (2006). Relación entre presión y volumen para el montaje de la técnica in vitro de producción de gas en Colombia. *Livestock Research for Rural Development*, 18(6).
39. Gómez, L. M., Posada, S. L., & Olivera, M. (2016). Starch in ruminant diets: a review. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 29(2), 77-90.
40. Gonzales, C.J.D. (2013). Alternativas para la reducción de emisiones de metano. CEGESTI. Éxito empresarial.N.246.pp.1-5.

41. Haro, J. M., & Haro, I. M. (2007). Nutrición Proteica de Bovinos Productores de Carne en Pastoreo. vol. 17, N. 002 Universidad de Guanajuato, México pp. 45-54
42. Izaguirre, O. M., & Miyasaka, A. S. (2001). Causas del color amarillo de la grasa de canales de bovinos finalizados en pastoreo. *Vet. Méx*, 32(1), 63.
43. Jiménez-Ferrer, G., Velasco-Pérez, R., Uribe-Gómez, M., & Soto-Pinto, L. (2008). Ganadería y conocimiento local de árboles y arbustos forrajeros de la selva Lacandona, Chiapas, México. *Zootecnia Tropical*, 26(3), 333-337.
44. Johnson, K. A., Westberg, H. H., Michal, J. J., & Cossalman, M. W. (2007). The SF6 tracer technique: Methane measurement from ruminants. In *Measuring methane production from ruminants* (pp. 33-67). Springer Netherlands.
45. Lara-Covarrubias, D., Mora-Flores, J. S., Martínez-Damián, M. A., García-Delgado, G., Omaña-Silvestre, J. M., & Gallegos-Sánchez, J. (2003). Competitividad y ventajas comparativas de los sistemas de producción de leche en el estado de Jalisco, México. *Agrociencia*, 37(1), 85-94.
46. Le Thi Ngoc Huyen, H. Q., Do, P. T., & Leng, R. A. (2010). Nitrate as fermentable nitrogen supplement to reduce rumen methane production. *Livestock Research for Rural Development*, 22(8).
47. Li, W., & Powers, W. (2012). Effects of saponin extracts on air emissions from steers. *Journal of animal science*, 90(11), 4001-4013.
48. Loor, Esteves. I. (2012). Nitrato de plata. [https://es.slideshare.net/izac\\_994/nitrato-de-plata-13400921](https://es.slideshare.net/izac_994/nitrato-de-plata-13400921).
49. López, S., & Newbold, C. J. (2007). Analysis of methane. In *Measuring methane production from ruminants* (pp. 1-13). Springer Netherlands.
50. Macedo, R., & Palma, J. (1998). Evaluación productiva y económica del manejo de bancos de proteína *Leucaena leucocephala* en Colima, México. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 15(5).
51. Marais, J. P., Therion, J. J., Mackie, R. I., Kistner, A., & Dennison, C. (1988). Effect of nitrate and its reduction products on the growth and activity of the rumen microbial population. *British Journal of Nutrition*, 59(02), 301-313.



52. Martinez, L.A.Marin, & F .A. Sánchez. (2001). Efectos del nitrato en la alimentación de rumiantes. *Mundo ganadero*.pp58-63.
53. Mendoza Cruz, L.M., Cisneros, Ortiz, M.E., Duran H, U. (2015). Evaluación del efecto del nitrato en la calidad y el rendimiento del tratamiento de aguas residuales por digestión anaerobia. Congreso nacional AMICA.
54. Milera, M. (2013). Contribución de los sistemas silvopastoriles en la producción y el medio ambiente. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 17(3), 7-24.
55. Molina Botero, I. C., Cantet, J. M., Montoya, S., Correa Londoño, G. A., & Barahona Rosales, R. (2013). Producción de metano in vitro de dos gramíneas tropicales solas y mezcladas con *Leucaena leucocephala* o *Gliricidia sepium*. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 8(2), 15-31.
56. Moore, J. A., Poore, M. H., Eck, T. P., Swingle, R. S., Huber, J. T., & Arana, M. J. (1992). Sorghum grain processing and buffer addition for early lactation cows. *Journal of dairy science*, 75(12), 3465-3472.
57. Murray, P. J., Chadwick, D. C., Newbold, C. J., & Lockyer, D. R. (2007). Measurement of methane from grazing animals-the tunnel method. In *Measuring Methane Production from Ruminants* (pp. 105-109). Springer Netherlands.
58. Noguera R R, Posada S L y Cardona L 2016: Efecto de diferentes niveles de nitrato de calcio sobre la degradación de la materia seca y la producción de metano en una fermentación ruminal in vitro de pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinus* Hochst. Ex Chiov.). *Livestock Research for Rural Development*. Volume 28, Article #92. Retrieved June 5, 2017, from <http://www.lrrd.org/lrrd28/5/nogu28092.htm>
59. Noguera, R. R., & Posada, S. L. (2007). Modelación de la cinética de degradación de alimentos para rumiantes. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20(2), 174-182.
60. Nsahlai, I. V., Umunna, N. N., & Negassa, D. (1995). The effect of multi-purpose tree digesta on in vitro gas production from napier grass or neutral-detergent fibre. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 69(4), 519-528.

61. Obispo, N. (1992). Los hongos anaeróbicos del rumen. *Zootecnia Tropical*, 10(1), 91-107.
62. Odo Primavesi, Rosa Toyoko Shiraishi Frighetto), Márcio dos Santos Pedreira, Magda Aparecida de Lima, Telma Teresinha Berchielli e Pedro Franklin Barbosa. (2004). Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. v.39, n.3, p.277-283.
63. Oelckers, A. E. M. (2013). Efecto de la dosis de nitrógeno en el rendimiento, calidad nutritiva y contenido de nitratos en una pradera dominada por *Lolium perenne*. Facultad de ciencias agrarias. Universidad austral de Chile. pp.2-9.
64. Owens, F. N., Lusby, K. S., Mizwicki, K., & Forero, O. (1980). Slow ammonia release from urea: rumen and metabolism studies. *Journal of animal science*, 50(3), 527-531.
65. Pedro Saucedo Montemayor. (1984). Historia de la ganadería en México. tomo1. UNAM. 325.
66. Pellat, F. P., González, J. W., Bazan, M., & Saynes, V. (2014). Estado Actual del Conocimiento del Ciclo del Carbono y sus Interacciones en México: Síntesis a 2014.
67. Pierre J. Gerber, Benjamin Henderson y Harinder P.S. Makkar. (2013). Mitigación de las emisiones de gases de efecto invernadero en la producción ganadera. FAO. Reproducción y sanidad animal. Pp.8-10.
68. Pinos-Rodríguez, J. M., García-López, J. C., Peña-Avelino, L. Y., Rendón-Huerta, J. A., González-González, C., & Tristán-Patiño, F. (2012). Impactos y regulaciones ambientales del estiércol generado por los sistemas ganaderos de algunos países de América. *Agrociencia*, 46(4), 359-370.
69. Pinto, R., Ramírez, L., Vera, J. K., & Ortega, L. (2002). Especies arbóreas y herbáceas forrajeras del sureste de México. *Pastos y Forrajes*, 25(3).
70. Posada S L y Noguera R R 2005: Técnica in vitro de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Livestock Research for Rural Development*. Vol. 17, Art. n.36. Retrieved April 21, 2017, from.
71. Primavesi, O., Frighetto, R. T. S., Pedreira, M. D. S., Lima, M. D., Berchielli, T. T., & Barbosa, P. F. (2004). Metano entérico de bovinos

- leiteiros em condições tropicais brasileiras. Pesquisa agropecuária brasileira, 39(3), 277-283.
72. Relling, A. E. Mattioli, G. A. (2002). Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. Fac.cs.veterinarias-UNLP.pp.34-36.
73. Ribeiro Pereira, L. G., Machado, F. S., Campos, M. M., Guimaraes Júnior, R., Tomich, T. R., Reis, L. G., & Coombs, C. (2015). Enteric methane mitigation strategies in ruminants: a review. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 28(2), 124-143.
74. Rivera, J. E., Naranjo, J. F., Cuartas, C. A., & Arenas, F. A. (2013). Fermentación in vitro y composición química de algunos forrajes y dietas ofrecidas bajo un sistema silvopastoril en el trópico de altura.
75. Rodríguez Carrillo, J. A. (2009). Aislamiento y caracterización in vitro de una bacteria acetogénica ruminal.
76. Rodríguez, Coutiño. E. M. Gutiérrez, Pérez. R. A. (2007). Los compuestos de plata y la salud. Salud de la comunidad.v.3.n.5.pp.30-36.
77. Rodríguez, G., Patiño, P. R., Altahona, L., & Gil, J. (2011). Dinámica de crecimiento de pasturas con manejo rotacional en diferente topografía en un sistema de producción de carne vacuna en córdoba, Colombia. Revista Colombiana de Ciencia Animal, 3(1), 47-61.
78. Rutsch, M. (1980). Acerca de la ganadería capitalista en México. Nueva antropología, vol.IV.n.14.pp 147-186.
79. SECOFI. (2000). Situación actual y perspectiva de la producción de leche de ganado bovino en México. Sistema de información comercial México.
80. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y alimentación (SAGARPA). (2006). Programa nacional pecuario. México. pp.1-25.
81. Servicio geológico mexicano. monografía de la plata (Ag). <http://www.sgm.gob.mx/Web/MuseoVirtual/pdfs/Monografia%20PLATA.pdf>.
82. Soliva, C. R., & Hess, H. D. (2007). Measuring methane emission of ruminants by in vitro and in vivo techniques. In Measuring methane production from ruminants (pp. 15-31). Springer Netherlands.
83. Sommart, K., Parker, D. S., Rowlinson, P., & Wanapat, M. (2000). Fermentation characteristics and microbial protein synthesis in an in vitro

- system using cassava, rice straw and dried ruzi grass as substrates. *ASIAN AUSTRALASIAN JOURNAL OF ANIMAL SCIENCES*, 13(8), 1084-1093.
84. Ungerfeld, E. M., & Kohn, R. A. (2006). The role of thermodynamics in the control of ruminal fermentation. *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism and Impact of Nutrition on Gene Expression, Immunology and Stress*, 55-85.
85. Van Kessel, J. S., & Russell, J. B. (1995, November). The effect of pH in vitro methane production from ruminal bacteria (Abstract# 2). In 23rd Biennial Conference on Rumen Function. Chicago, Illinois, EU (Vol. 23).
86. Vargas, J., Pabón, M., & Carulla, J. (2014). Producción de metano in vitro en mezcla de gramíneas-leguminosas del trópico alto colombiano. *Archivos de zootecnia*, 63(243), 397-407.
87. Vera, J. K., Avilés, L. R., Ferrer, G. J., Alayón, J. A., & Cancino, L. R. (1999). Árboles y arbustos para la producción animal en el trópico mexicano. *FAO. animal production and health paper*, 231-258.
88. Videla, C., Picone, L., Zamuner, E., & Maceira, (2015). Emisiones de gases desde el suelo de sistemas de engorde intensivo a corral. *Facultad de ciencias agrarias, universidad nacional de mar de plata*.pp.1-10.
89. Vik-Mo, L. and Lindberg, J.E. (1985).: Zn saccodegradability of protein (N) and dry matter in samples of individual feeds or combinations tested with diets medium or high in protein. *Acta Agn'c.scand.*, 35: 11 7-1 28
90. Vilaboa-Arroniz, J., Díaz-Rivera, P., Ruiz-Rosado, O., Platas-Rosado, D. E., González-Muñoz, S., & Juárez-Lagunes, F. (2009). Caracterización socioeconómica y tecnológica de los agroecosistemas con bovinos de doble propósito de la región del Papaloapan, Veracruz, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10(1), 53-62.