



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**EVALUACIÓN DEL CONSUMO, AMBIENTE RUMINAL Y EMISIÓN DE METANO
DE BORREGOS ALIMENTADOS CON CAMPO NATURAL**

Por

Camila CUSTODIO DOLZ y Ana Clara ECHENAGUSÍA MARTÍNEZ

TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias
Orientación: Producción Animal

MODALIDAD: Ensayo experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2022**

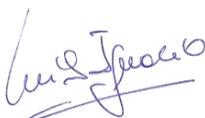
PÁGINA DE APROBACIÓN

Presidente de mesa:



Analía Pérez-Ruchel

Segundo miembro (Tutor):



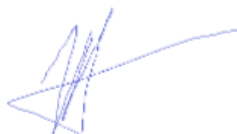
Ignacio De Barbieri

Tercer miembro:



Verónica Ciganda

Co-tutores:



Gonzalo Fernández-Turren


Zoot. PhD.

Jean Savian

Fecha: 31 de mayo de 2022

Autores:



Camila Custodio



Ana Clara Echenagusía

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a todas aquellas personas que hicieron posible la realización de este trabajo:

A nuestras familias y amigos, por el apoyo incondicional.

A nuestro tutor el Ing. Agr. Ignacio de Barbieri y co-tutores Dr. Gonzalo Fernández y al zootecnista Jean Savian; por su tutoría y colaboración.

A la Ing. Agr. Ana Inés Tafernaberry, por su colaboración en todo el proceso de este trabajo.

Al personal de INIA Glencoe, por la colaboración en el trabajo de campo.

Al personal del laboratorio del IPAV y a la Dra. Analía Pérez-Ruchel, por su asistencia técnica.

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN	7
SUMMARY	8
1. INTRODUCCIÓN	9
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	10
2.1. El campo natural	10
2.1.1. Principales características del campo natural uruguayo	10
2.1.2. Campo natural en suelos de basalto	11
2.2. Consumo de forraje	12
2.2.1. Factores que afectan el consumo en los rumiantes	12
2.3. Ambiente Ruminal	14
2.3.1. Generalidades: recuerdo anatomo-fisiológico	14
2.3.2. pH ruminal	15
2.3.3. Digestión del alimento	16
2.3.4. Microbiota ruminal	17
2.3.5. Ácidos grasos volátiles (AGV)	18
2.3.6. Metano	19
2.3.7. NH ₃ en rumen	22
3. HIPÓTESIS	23
4. OBJETIVOS	23
4.1. Objetivo general	23
4.2. Objetivos específicos	23
5. MATERIALES Y MÉTODOS	23
5.1. Animales y diseño experimental	24
5.2. Determinaciones y muestreos	26
5.2.1. Caracterización de la estructura del campo natural	26
5.2.2. Consumo y digestibilidad de materia seca, orgánica y nitrógeno	26
5.2.3. Ambiente ruminal (pH, AGV, NH ₃)	27

5.2.4. Emisiones de metano, dióxido de carbono y oxígeno	27
5.3. Análisis químicos	29
5.4. Análisis estadístico	29
6. RESULTADOS	30
6.1. Caracterización de la pastura y animales utilizados	30
6.2. Consumo y digestibilidad del forraje	31
6.3. Ambiente ruminal	32
6.4. Emisiones de metano (CH ₄) y dióxido de carbono (CO ₂)	36
7. DISCUSIÓN	36
8. CONCLUSIONES	39
9. BIBLIOGRAFÍA	40

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tablas:

Tabla 1. Características estructurales, composición morfológica y composición química del campo natural ofrecido a los borregos.	30
Tabla 2. Oferta de forraje, consumo y digestibilidad en borregos alimentados con diferentes ofertas de campo natural según tratamiento y período experimental.	31
Tabla 3. Parámetros ruminales de borregos alimentados con diferentes niveles de oferta de campo natural y en diferentes períodos experimentales.	33
Tabla 4. Emisiones (g/a/d) de metano y dióxido de carbono en borregos alimentados con diferentes niveles de oferta de campo natural y en diferentes períodos experimentales	35

Figuras:

Figura 1. Foto de las instalaciones del ensayo.	25
Figura 2. Foto de un borrego en su jaula metabólica.	25
Figura 3. Representación esquemática de un período	26
Figura 4. Foto de los animales en las cajas de medición de gases	28
Figura 5. Consumo de materia seca (% del peso vivo) de borregos alimentados con campo natural según tratamiento y período experimental.	32

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de distintos niveles de oferta de forraje de campo natural en el consumo, ambiente ruminal y las emisiones de metano en borregos Corriedale. Los ovinos fueron alojados en jaulas metabólicas individuales y asignados aleatoriamente a uno de cuatro tratamientos: T1 (15 g MS/kg PV), T2 (20 g MS/kg PV), T3 (25 g MS/kg PV) y T4 (*ad libitum*). Se realizaron dos períodos experimentales consecutivos (A y B) de 10 días de acostumbramiento y 5 días de mediciones cada uno. Se extrajeron muestras de contenido ruminal mediante una sonda esofágica luego de 4 horas de realizada la oferta de forraje, previamente habiendo pasado cada animal por una cámara de acumulación portátil para la medición de la emisión de gases. Se estimó el consumo y digestibilidad del forraje, y se estudió el ambiente ruminal (pH ruminal, concentración de ácidos grasos volátiles, AGV, y NH_3) y las emisiones de metano y dióxido de carbono. Los datos fueron analizados mediante el software estadístico SAS. El consumo de MS aumentó a medida que se incrementó el nivel de oferta de campo natural hasta el nivel de 25 g MS/kg PV ($P < 0,01$). Además, hubo diferencias entre períodos tanto en el consumo de alimento como en la digestibilidad siendo mayores para el período A ($P < 0,01$). El pH ruminal y la concentración de NH_3 ruminal fueron similares entre tratamientos, con diferencias entre periodos, presentando máximos valores en el período B. No se observaron diferencias entre tratamientos en la concentración total de AGV, ni en las concentraciones individuales de acético, propiónico y butírico. El ácido acético presentó la mayor concentración en todos los tratamientos y períodos, mientras que los valores del ácido butírico fueron similares a los del ácido propiónico. La producción total de metano aumentó a medida que la oferta de forraje aumentó hasta el nivel de 25 g MS/kg PV, observándose diferencias entre tratamientos ($P < 0,01$). Concluimos que el aumento en la oferta de forraje hasta valores de 2,5% del PV en borregos alimentados con campo natural incrementó el consumo de MS y las emisiones de metano, sin diferencias en el pH, AGV y NH_3 .

SUMMARY

The aim of this work was to estimate the level of intake, ruminal environment, and methane emissions in Corriedale wethers fed with different levels of forage allowance of natural grasslands. The wethers were housed in individual metabolic cages and allocated aleatory to one of the four treatments: T1 (15 g DM/kg BW), T2 (20 g DM/kg BW), T3 (25 g DM/kg BW) and T4 (*ad libitum*). Two experimental periods were performed, each experimental period lasted 15 days (10 days for animal acclimatation and 5 days of measurements). Ruminal content samples were taken with an esophageal probe, 4 hours after the forage offer was made, having previously passed each animal through a portable accumulation chamber to measure the gas emission. Forage intake and digestibility, ruminal environment (ruminal pH, volatile fatty acids, VFA, and NH_3) and methane and carbon dioxide emissions were estimated. Data were analyzed using the SAS software. The level of DM intake increased as the level of offer between treatments also increased up to T3 ($P < 0,01$). In addition, there were differences in the level of intake and digestibility between periods, being greater for period A ($P < 0,01$). Both ruminal pH and ammoniacal nitrogen were greater in the period B, having no differences between treatments. No differences were found between treatments in the concentration of VFA, acetic, propionic and butyric. The acetic acid was the volatile fatty acid with the highest concentration, being this for all treatments and periods, however the values of butyric acid were similar to those of propionic acid. Methane production was affected by forage allowance, being the highest value in T3 and the lowest in T1 ($P < 0,01$). We conclude that the increase in forage allowance up to values of 2.5% of BW in sheep fed with natural grassland increased forage intake and methane emissions, without showing differences in pH, VFA and NH_3 .

,

1. INTRODUCCIÓN

En Uruguay el campo natural ocupa 64% del territorio nacional y es la base forrajera de la producción ganadera (MGAP, 2016). Generalmente se maneja con escasa tecnología existiendo una importante brecha tecnológica. A su vez, el resultado productivo y su estado de conservación dependen del nivel de intensidad de su uso. En este sentido, el pobre ajuste a un adecuado manejo del pastoreo (alta carga e intensidad de pastoreo, alta relación lanar/vacuno), que no considera una estructura óptima del campo, llevan a una utilización ineficiente del forraje (Ayala y Bermúdez, 2005; Formoso, 2005). El inadecuado manejo del pastoreo determina una baja productividad de los sistemas pastoriles y un mayor impacto ambiental, principalmente por la mayor emisión de gases de efecto invernadero y baja capacidad de secuestro de carbono en el suelo, problema que se magnifica en un contexto de alta variabilidad climática.

Se ha indicado que cambios tecnológicos simples, de bajo riesgo y de relativamente bajo costo podrían aumentar significativamente la productividad (Nabinger y Carvalho, 2009; Soca, Espasandín y Carriquiry, 2013). En sistemas pastoriles basados en campo natural, estos cambios implicarían manejar estructuras eficientes del forraje que generen condiciones de cosecha favorables al consumo de nutrientes de los animales, optimizando así a la producción animal y consecuentemente mitigando las emisiones de gases de efecto invernadero (Formoso, 2005), principalmente del metano (CH_4) derivado de la fermentación entérica. Para incentivar la diferenciación en el uso de los recursos forrajeros es necesario continuar con la generación de conocimiento sobre los efectos de la estructura y oferta del forraje en la respuesta animal.

El incremento en el consumo de alimento por parte de los rumiantes tiene como consecuencia un incremento en la emisión total de CH_4 y un descenso de la emisión de CH_4 por unidad de alimento consumida (Cottle, Nolan y Wiedermann, 2011; Hegarty, Alcock, Robinson, Goopy y Vercoe, 2010). A su vez, la producción de CH_4 estará relacionada al ambiente ruminal. En este sentido, frente a menores valores de pH en el rumen se han observado disminuciones en las emisiones de CH_4 (Velazco, 2015). Estas relaciones han sido también descriptas, cuando los animales son alimentados con forrajes de alto valor nutritivo (Hammond et al., 2013).

En el marco descripto previamente, se entiende necesario generar información sobre la relación entre la oferta de forraje y el consumo con el ambiente ruminal y la emisión de CH_4 en ovinos alimentados con campo natural. De esta forma, se contribuirá con indicadores relacionados con la capacidad y el rol del campo natural sobre las respuestas de los animales y la mitigación del impacto ambiental de la ganadería. A su vez, es importante indicar que la información generada en este ensayo experimental permitirá contribuir a una base de datos de consumo y emisión de CH_4 de ovinos consumiendo campo natural en Uruguay, que será base para el desarrollo de estrategias para mejorar la producción animal y mitigar los impactos ambientales en estos sistemas, y que estos datos colectados en condiciones locales puedan ser utilizados en el futuro para contribuir con el inventario nacional de gases de efecto invernadero.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. El campo natural

Los pastizales y arbustales cubren más del 70% de la región templada de Argentina y Uruguay (MGAP, 2016). En tanto, la mayor parte de las pasturas nativas se concentran en la Pampa Inundable y en los Campos uruguayos (Jaurena et al., 2005). Estos campos naturales presentan alta diversidad y son parte de una de las grandes riquezas del Uruguay, constituyendo el principal recurso forrajero de la producción ganadera extensiva, ocupando aproximadamente el 81,7% (11,7 millones de has) del área forrajera total del país (14,3 millones de has) (DIEA, 2020).

En esta área (11,7 millones de has), son mayoría aquellos sistemas de producción en los que cohabitan ovinos y vacunos, debido a las múltiples ventajas que encuentra el productor en la cría mixta de estas dos especies de rumiantes. El sistema de pastoreo mixto permite lograr una mejor combinación entre la pastura ofrecida y la contraparte cosechada, lo que puede resultar en sistemas de pastoreo más productivos (Pueyo, Pizzio, Fernández y Ordenavi, 2013). Sin embargo, una de las principales carencias de estos sistemas de producción, basados principalmente en la exclusiva explotación del campo natural, son las consecuencias de la variabilidad de la producción de materia seca (MS) de las pasturas, ligadas al tipo de suelo, estación y clima (Pereira, 2011). De esta forma aquellos sistemas basados en la exclusiva explotación del campo natural son principalmente dependientes de las precipitaciones a lo largo del año, lo que resulta en un constante desafío de planificación estratégica en el manejo.

Uno de los principales puntos a considerar a la hora de realizar un plan de manejo en sistemas extensivos tradicionales es el manejo del pastoreo. El ajuste de la carga animal para controlar y ofrecer la mejor estructura de pasto (moderada intensidad de pastoreo) para los animales, permite aumentar la acumulación de forraje, sus características estructurales (ej., cantidad de hojas verdes) y la ganancia de peso de los animales; evitando así una utilización ineficiente del forraje, y períodos de sobrepastoreo (Jaurena, Formoso, Miller y Rebuffo, 2013).

2.1.1. Principales características del campo natural uruguayo

El campo natural uruguayo cuenta con múltiples especies forrajeras, contando con más de 400 tipos de gramíneas, principalmente los géneros *Andropogon*, *Axonopus*, *Paspalum*, *Aristida*, *Cyperus*, *Stipa*, *Piptochaetium*. Sin embargo, las leguminosas son minoría, representando estas raramente más del 5% de los campos y contando con 100 especies diferentes, siendo las más abundantes de los géneros *Trifolium* y *Adesmia* (Pereira, 2011).

El tipo de forraje de la región se considera adaptado (cada vez más) a ambientes secos, lo que se evidencia analizando el tipo de hojas presentes (estrechas y alargadas) como son los espartillos y flechillas (Pereira, 2011). Se destaca la alta capacidad de resiliencia del recurso en lo que refiere a las posibilidades de producción en distintas situaciones de clima y manejo. Sin embargo, el manejo del pastoreo inadecuado causa una disminución de la cobertura vegetal, aumento de suelo

desnudo, lo que resulta en una predisposición del suelo a la exposición ante la lluvia y consecuente erosión (Pereira, 2011).

La producción de forraje en campo natural está sujeta a variaciones estacionales y tipo de suelos destacándose al invierno como la estación de menor producción forrajera, en contraposición al verano que podría en años específicos ser la de mayor productividad (en años de abundantes precipitaciones), mientras que la primavera es la estación de mayor estabilidad y con muy buena producción de forraje (Pereira, 2011). Si bien este patrón productivo estacional suele repetirse año a año, tiene ciertas variaciones en respuesta a las fluctuaciones climáticas, esto se vio reflejado en la producción anual de forraje de la cuesta basáltica en el año 2019 (año caracterizado por abundantes precipitaciones principalmente en el período estival), por ejemplo, en dicho año el promedio de producción total anual fue de 5305 kgMS/ha, mientras que el promedio de los últimos 20 años fue de 4706 kgMS/ha (DIEA, 2020).

2.1.2. Campo natural en suelos de basalto

La región de basalto está localizada al noroeste del país y presenta dos zonas con potenciales muy distintos: basalto profundo que ocupa 1.347.922 has y basalto superficial que ocupa 2.539.462 has, en suma, ambas representan alrededor del 21%. En estos campos de basalto podemos encontrar tres tipos de suelos, clasificados según su profundidad en superficiales, medios y profundos. De esta manera, la pedregosidad es mayor a medida que disminuye la profundidad del suelo (Pereira, 2011). Dicha profundidad no solo determina el porcentaje de pastura que lo recubre, sino que también condiciona las especies encontradas. A su vez los valores de la curva de crecimiento de forraje se van a ver alterados según la estación del año, las especies presentes y el tipo de suelo. La distribución estacional indica que los suelos superficiales se presentan con vegetación más invernal que los profundos, sufriendo una notable crisis estival (Carámbula, 1988).

En la región de basalto, el promedio anual de producción de forraje varía entre 2885 y 4580 kg MS/ha en función del tipo de suelo (superficial rojo o negro y profundo), y el régimen de precipitaciones (Berretta y Bemhaja, 1997). Es así que los basaltos profundos y negros tienen mayor fertilidad y menor porcentaje de suelo desnudo que los superficiales pardo rojizos y negros (Carámbula, 1988).

En suelos de basalto negros y profundos, las evaluaciones del crecimiento estacional en la estación experimental Glencoe del INIA, dieron como resultado que otoño y primavera son las estaciones de mayor crecimiento en la pastura, representando más del 70% de la producción total anual. Por el contrario, el invierno tiene la tasa más baja de crecimiento y menor producción de forraje, mientras que el verano es la estación con mayor fluctuación en cuanto a la producción de forraje entre los distintos años (Montossi, Pigurina, Santamarina y Berretta, 2000). En suma, la primavera es la estación de mayor producción forrajera, mientras que el invierno la de menor crecimiento. De acuerdo con DIEA (2021) las producciones de MS para la Cuesta basáltica a lo largo de las estaciones del 2020 fueron 1868 kg/MS/ha para el verano, 964 kg/MS/ha para el otoño, 584 kg/MS/ha para el invierno y 1324 kg/MS/ha para la primavera. En base a estos datos se evidencia un importante efecto año, en el que el

verano tuvo una alta producción forrajera, mientras que el otoño una producción por debajo de lo esperado. De todas formas y coincidiendo con Montossi et al. (2000), el invierno es la estación de menor producción de forraje.

Además de la producción de MS del campo, su valor nutritivo es variable durante las estaciones del año. Por ejemplo, la digestibilidad de la MS de las pasturas naturales varía entre las estaciones, pudiendo identificarse al verano como la estación más limitante en cuanto a porcentajes de digestibilidad, pero no de producción forrajera (Montossi et al., 2000).

A su vez, el contenido proteico varía entre 6 y 15% dependiendo de la estación, composición botánica y proporción de restos secos (Berretta, Risso, Montossi y Pigurina, 2000). Las pasturas sobre suelos más superficiales (mayor presencia de hierbas enanas con mayor contenido proteico), presentan valores superiores en proteína cruda en relación con suelos profundos, además los valores se ven influenciados por la estación del año, contando con mínimos en verano y máximos en invierno (Berretta et al., 2000).

2.2. Consumo de forraje

El consumo en rumiantes es regulado por determinados factores, que pueden clasificarse en tres grupos: factores ligados al alimento, factores ligados al animal y factores ligados al ambiente (McDonald, Edwaeds, Greenhalgh y Morgan, 1999).

2.2.1. Factores que afectan el consumo en los rumiantes

Factores relacionados al alimento

En los sistemas pastoriles, los factores más relevantes relacionados al alimento son la presentación de la pastura (disponibilidad, altura, densidad), y las características físicas y químicas (tamaño de partícula, valor nutritivo). Se considera que el volumen es una de las principales limitantes del consumo y que esta regulación es ejercida a nivel de la pared ruminal por tenso-receptores que envían señales al sistema nervioso central sobre el grado de distensión de sus paredes (McDonald et al., 1999).

El aumento del contenido de paredes celulares y tejidos lignificados a consecuencia del envejecimiento y desarrollo de las pasturas reduce su digestibilidad y enlentece su tránsito por el aparato digestivo y por consiguiente disminuye la tasa de consumo (González, 1990). Esto se debe a una relación negativa entre la cantidad de fibra detergente neutro (FDN) que contiene el alimento y la velocidad de digestión (McDonald et al., 1999).

El tamaño de la partícula no solo afecta directamente a la masticación, rumia y posterior fermentación y digestión, sino que ante partículas más grandes disminuye la tasa de pasaje por el tracto digestivo, disminuyendo la velocidad de vaciado ruminal, evitando que el espacio sea ocupado nuevamente por más alimento. Por el contrario, si la dieta consiste en alimento de partículas más pequeñas, de rápida fermentación y digestión aumenta la tasa de pasaje por el tracto digestivo, aumentando por consiguiente el consumo (Zereu, 2016).

El tamaño de bocado, la tasa de bocado y el tiempo de pastoreo son determinantes del consumo diario (Ganzábal, 1997). La selección del bocado por los animales en una pastura está condicionada tanto por la búsqueda y selección de una parte de la planta, como de las diferentes especies forrajeras que estén presentes (Poppi, Hughes y L´ Huillier, 1987). La palatabilidad solamente tiene influencia sobre el consumo cuando los animales tienen opción a la selección del alimento, en estos casos las propiedades sensoriales de los alimentos pueden tanto disminuir como aumentar el consumo (Baumont, 1996).

La selectividad del ovino es condicionante de la digestibilidad de la pastura consumida y afecta también al consumo, a causa de la influencia del tamaño de bocado. Es así que en las pasturas con más de 70% de material muerto, los componentes verdes son difíciles de cosechar por los animales, lo que resulta en un menor consumo (Poppi et al., 1987).

Factores relacionados al animal

Los factores que afectan el consumo relacionados al animal incluyen: la especie, la raza, la capacidad ruminal, peso metabólico, salud animal, experiencias previas, entre otros. A continuación, desarrollaremos brevemente algunos de ellos.

La capacidad ruminal es un factor crítico en la determinación de la ingestión de los rumiantes, y por ello todo lo que pueda modificar la relación entre el tamaño ruminal y el tamaño del animal, puede afectar indirectamente al consumo de alimentos (McDonald et al., 1999). Animales más chicos tienen costos metabólicos superiores por unidad de volumen ruminal que animales más grandes, es por esto que pueden elegir alimentos de mejor valor nutritivo y de fermentación más rápida.

Según el NRC (2007) una borrega de un año de edad que pesa 40 kg para mantenerse necesita consumir 0,821 kg de MS por día, lo que equivale al 2,05% de su peso vivo (PV). En trabajos realizados en INIA comparando la capacidad selectiva entre vacunos y ovinos se evidenció que estos últimos consumen pasturas con menores niveles de FDN y de FDA, debido a la capacidad de selección (Montossi et al., 2000).

El hígado es el órgano que, por su papel en el metabolismo de nutrientes (absorbidos de la dieta o provenientes de los tejidos) envía señales al cerebro estimulando o inhibiendo el consumo. Los ácidos grasos volátiles, principalmente el propionato, participan en el control del consumo voluntario a nivel hepático, estimulando la sensación de saciedad (Allen, Bradford y Oba, 2009). O sea, alimentos que son rápidamente fermentables y producen gran cantidad de ácidos grasos volátiles en un corto período de tiempo provocan un efecto de disminución en el consumo por parte del rumiante.

Las restricciones alimenticias y períodos de ayuno son condicionantes también de la selectividad del alimento; si los animales tienen apetito aceptarían comidas menos palatables (aumenta el consumo y disminuye la selectividad). Además, la experiencia previa que haya tenido el animal pastoreando al pie de la madre en etapas tempranas de la vida condiciona la misma, aprendiendo qué alimentos deben evitar y a medida

que crecen comienzan a desarrollar preferencias propias a través de la experiencia por prueba y error (Montossi et al., 2000).

La síntesis de proteína microbiana que cubre la mayoría de los requerimientos de aminoácidos esenciales para los rumiantes depende de la capacidad de las bacterias para producirla. Esta síntesis depende tanto de la disponibilidad de materia orgánica fermentable en rumen, como del aporte de compuestos nitrogenados (González, 1990). Alimentos deficitarios en proteína reducen la actividad de los microorganismos y por lo tanto su digestión de la celulosa. Estos alimentos bajos en proteína pueden ser complementados con la suplementación de concentrados proteicos o con nitrógeno no proteico para aliviar la deficiencia de nitrógeno en rumen y estimular la flora bacteriana. En estos casos, una vez suplementados tienden a aumentar su consumo, debido a mejoras en la fermentación ruminal y aumento de la tasa de digestión y de pasaje (Forbes, 2007; Kozloski et al., 2009). Por otro lado, altos niveles de proteína pueden actuar disminuyendo el consumo ya que aumentan los productos de desaminación como la urea y amoníaco, siendo estos tóxicos cuando se encuentran en exceso (Forbes, 2007).

Factores relacionados al ambiente

La temperatura afecta indirectamente el nivel de consumo voluntario, frente a baja temperatura ambiente el consumo tiende a aumentar mientras que, las altas temperaturas resultan en una disminución del consumo voluntario (Forbes, 2007). La disponibilidad de agua también es esencial, la misma está especialmente involucrada en los procesos digestivos y metabólicos, por lo que su consumo está directamente relacionado al consumo de MS (Forbes, 2007).

Otro factor que afecta el consumo en el caso de los ovinos es el fotoperíodo reduciendo la cantidad de horas dedicadas a la ingestión cuando los días se acortan (McDonald et al., 1999). A su vez, el comportamiento ingestivo de los ovinos suele ser influenciado por la presencia de otros animales.

2.3. Ambiente Ruminal

2.3.1. Generalidades: recuerdo anatomo-fisiológico

El estómago de los rumiantes está formado por cuatro compartimientos: retículo, rumen, omaso y abomaso. Cada uno de estos compartimientos tiene diferente peso relativo a la suma de los cuatro, siendo de 80% para el rumen, 5% el retículo, 7-8% el omaso y 7-8% el abomaso (Reece, Erickson, Goff y Uemura, 2015).

Los alimentos llegan al rumen a través del esófago, en donde los sólidos son parcialmente digeridos y fermentados, dando lugar a productos de dicha fermentación como son ácidos grasos volátiles (AGV), células microbianas, y gases como metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂) (McDonald et al., 1999).

El retículo-rumen proporciona un sistema de cultivo continuo para bacterias, hongos, protozoarios, arqueas y virus (McDonald et al., 1999). Además, posee alta capacidad de almacenamiento y mezclado de los alimentos, lo que resulta en una disminución

en la tasa de pasaje del alimento por el tracto digestivo, permitiendo el desarrollo de dicha masa microbiana (Chilibroste, 2002).

El principal aporte de nutrientes proveniente del forraje está constituido por polisacáridos unidos por enlaces Beta 1-4 que no pueden ser hidrolizados por las enzimas producidas por los rumiantes, por lo que la microbiota juega un rol indispensable en la digestión-fermentación de estos (Chilibroste, 2002). Los factores determinantes de la simbiosis entre el rumiante y la microbiota se resumen en la temperatura, pH, anaerobiosis y tipo de dieta. Con respecto al primer factor, se produce a partir del calor generado durante la fermentación y el metabolismo animal y tiende a mantenerse relativamente constante oscilando entre 38-42°C (Dijkstra, Forbes y France, 2005). El pH del rumen debe mantenerse entre 6 y 7 para el correcto crecimiento, proliferación y equilibrio de los microorganismos. Por último y no menos importante, el potencial redox varía entre -300 y -350 mV lo que indica que se encuentra constantemente en condiciones de reducción, favoreciendo la supervivencia y crecimiento de microorganismos que toleran estas condiciones (anaerobios) (Church, 1974). La suma de estos factores hace del rumen un ambiente propicio para la proliferación y crecimiento de la microbiota encargada de la digestión de los alimentos de los rumiantes.

2.3.2. pH ruminal

Es la medida del grado de acidez o alcalinidad de una sustancia o una solución y se mide en una escala de 0 a 14. El pH indica la concentración de iones de hidrógeno presentes en determinadas disoluciones, y se define como el logaritmo negativo de base 10 de la actividad de los iones hidrógeno. El pH determina muchas características notables de la estructura y de la actividad de las moléculas, por lo tanto, del comportamiento de células y organismos.

Regulación del pH ruminal

La importancia del equilibrio del pH ruminal radica en que el rumen se mantiene saludable mientras el pH promedio sea mayor o igual a 5,7; ya que debajo de este pH las bacterias celulolíticas comienzan a morir y se puede dañar el epitelio ruminal debido al acúmulo de ácidos (Reece et al., 2015). A su vez, la capacidad buffer del rumen se basa en el ingreso de saliva, la absorción de AGV, el consumo de carbono por los microorganismos, las sales minerales que reaccionan con los ácidos orgánicos vegetales y producen CO₂. La proteína del alimento y el nitrógeno no proteico (NNP) al ser degradados generan NH₃ neutralizando ácidos en el proceso. De todas formas, los principales componentes de la regulación son el bicarbonato y los AGV y en menor medida el fosfato de la saliva (Counotte, Van't Klooster, Van der Kuilen y Prins, 1979).

La saliva participa en el proceso de masticación, deglución, reciclaje y rumia, transportando el bolo ruminal tanto a la cavidad bucal para su masticación como al rumen para su digestión, aportando agua y sales minerales necesarias para el mantenimiento del medio ruminal, permitiendo el crecimiento y actividad de la microbiota (Carter y Grovum, 1990). En este sentido, el consumo de forrajes con alto contenido en fibra estimula tanto la rumia como la secreción de saliva (Fischer,

Buchanan-Smith, Campbell, Grieve y Allen, 1994). La saliva con un pH de 8,2-8,4 resultado de su composición rica en sodio, potasio, bicarbonato y fosfato, ejerce una potente acción buffer a nivel de contenido ruminal que, junto a la capacidad de absorción de AGV por las papilas ruminales, actúan como mecanismos homeostáticos manteniendo el pH ruminal (McDonald et al., 1999).

La pared ruminal es el principal medio de absorción para los AGV, dicha capacidad absorptiva depende de las condiciones en el lumen del órgano (pH, tasa de pasaje), condiciones de la mucosa ruminal (superficie, flujo sanguíneo y tejido), dieta, estado general del animal, perfil del AGV considerado y acidez del contenido ruminal (Dirksen, Dori, Arbel, Schwarz y Liebich, 1997). Tanto el ácido propiónico como el ácido butírico aumentan su tasa de absorción con niveles de pH menores, sin embargo, la tasa de absorción del ácido acético no se ve influenciada en mayor medida por esta variable. Por lo tanto, con disminuciones en el pH la absorción de ácido butírico es mayor que la de los otros ácidos y la de propiónico mayor que la de ácido acético (Dirksen et al, 1997). De todas formas, como regla general, la fracción de ácido graso absorbida tiende a disminuir a medida que el pH del medio ruminal aumenta.

La composición del líquido ruminal también influencia la fracción absorbida de los ácidos. En cuanto al ácido acético niveles intermedios de concentración del mismo aumentan significativamente la absorción en comparación a concentraciones más bajas. Sin embargo, el ácido propiónico tiende a aumentar su absorción con concentraciones menores del mismo y las concentraciones de ácido butírico parecen no afectar de manera significativa su absorción (Dirksen et al., 1997).

Los principales factores implicados en la fluctuación del pH ruminal están relacionados con la producción de saliva, la dieta, el ayuno prolongado, el nivel de consumo, la humedad del alimento, y la absorción de los AGV por las papilas ruminales.

2.3.3. Digestión del alimento

Las características y composición química de la dieta influyen directamente sobre el aprovechamiento digestivo de los nutrientes. A continuación, nos enfocaremos en las características de los forrajes y cómo estas influyen en la digestibilidad de estos.

Los forrajes, en contraposición a los concentrados, están compuestos por las hojas y tallos de las pasturas y plantas de cultivos, y su materia seca contiene cantidades significativas de celulosa. Estos alimentos son cosechados en distintos estados vegetativos de las plantas, por lo que sus nutrientes están en un continuo estado de cambio (Freer y Dove, 2002). A su vez, el aprovechamiento digestivo estará determinado por la interacción entre el animal, planta y microorganismos ruminales. (Dijkstra et al., 2005).

En cuanto a la composición química, el componente que le da la estructura a los forrajes son los polisacáridos con enlaces beta, que son junto con la lignina, lo que comúnmente llamamos fibra. Otros componentes de los forrajes son proteínas, azúcares solubles, lípidos, minerales y vitaminas (Dijkstra et al., 2005). En la mayoría

de los forrajes, el contenido de lípidos y proteínas es bajo, por lo que el contenido de energía bruta de los mismos refleja principalmente el contenido energético de los carbohidratos. Estos compuestos se separan en aquellos que son solubles y se encuentran en el contenido celular (azúcares, fructanos y almidón) y en los constituyentes de la pared celular (celulosa y hemicelulosa) (Freer y Dove, 2002).

La digestibilidad de los alimentos es estimada a partir de la excreción fecal, asumiendo que la cantidad que no se excreta en las heces fue utilizada por el animal (McDonald et al., 1999). En este sentido, la digestibilidad de los alimentos guarda estrecha relación con su composición química, por lo que la calidad de los forrajes tiende a variar más en su composición química con respecto a los concentrados. La fracción fibrosa sobre todo es lo que más afecta a la digestibilidad, siendo importante tanto la cantidad de la misma como su composición química (McDonald et al., 1999). Los forrajes con avanzado grado de madurez tienen alto contenido en lignina, y esto se asocia a menor digestibilidad de las paredes celulares ya que este compuesto tiene gran resistencia a la degradación química y además se une a los demás carbohidratos vegetales impidiendo así su degradación enzimática (McDonald et al., 1999).

A su vez, existen otros factores que impactan significativamente en la eficiencia de utilización del alimento, como son la degradabilidad, la tasa de pasaje del alimento, el volumen del rumen, la tasa de fermentación, la tasa de renovación ruminal y el tiempo de digestión. La ingesta de los distintos tipos de gramíneas y leguminosas, y su estado vegetativo, influyen sobre estos factores afectando así la digestibilidad global del alimento (Kamande, 2006).

2.3.4. Microbiota ruminal

La síntesis de proteína microbiana cubre la mayoría de los requerimientos de aminoácidos esenciales para los rumiantes. Esta síntesis depende tanto de la disponibilidad de materia orgánica fermentable en rumen, como del aporte de compuestos nitrogenados (González, 1990). Alimentos deficitarios en proteína reducen la actividad de los microorganismos y por lo tanto su digestión de la celulosa. Estos alimentos bajos en proteína pueden ser complementados con la suplementación de concentrados proteicos o con NNP para aliviar la deficiencia de nitrógeno en rumen y estimular la microbiota ruminal. En estos casos, una vez suplementados tienden a aumentar su consumo, debido a mejoras en la fermentación ruminal y aumento de la tasa de digestión y de pasaje (Forbes, 2007; Kozloski et al., 2009).

La relación simbiótica entre el hospedador y la microbiota se basa en la fermentación del alimento por los microorganismos, resultando en la producción de ácidos grasos de cadena corta, dióxido de carbono, metano, proteínas y vitaminas (De Barbieri, 2014). La densidad bacteriana se encuentra en el rango de 10^7 a 10^{10} células/ml de líquido ruminal. Sin embargo, los protozoos se encuentran en menor cantidad (10^6 cel/ml) pero son de mayor tamaño por lo que la masa total es similar a la bacteriana. Las arqueas participan en la producción de metano utilizando CO_2 e hidrógeno y regulan la presión parcial de hidrógeno en rumen, mientras que los hongos aumentan la velocidad de digestión de la fibra al adherirse a las paredes celulares de las plantas y potencian la actividad bacteriana (Castillo-López y Domínguez-Ordóñez, 2019).

El ambiente ruminal (presión osmótica, temperatura, anaerobiosis, potencial redox, pH) es el resultado de la fermentación microbiana y se encuentra determinado por el tipo de sustrato que llega al rumen, afectando a la estructura de la población microbiana.

La disminución en la ingesta de alimentos también puede afectar de forma negativa a la población microbiana. Existe una relación positiva entre el incremento de la ingesta y el rendimiento microbiano ya que aumenta la tasa de pasaje, previniendo la depredación de las mismas por los protozoarios e incrementa la disponibilidad de nitrógeno bacteriano en el duodeno (Castillo-López y Domínguez-Ordóñez, 2019). Además, si la energía de la dieta no es un factor limitante las bacterias serán más eficientes para la síntesis de proteína microbiana estimulando su crecimiento y multiplicación y aumentando el aporte de proteína microbiana de alto valor biológico al animal.

2.3.5. Ácidos grasos volátiles (AGV)

Los AGV son producidos en el rumen como producto final de la fermentación microbiana de los alimentos, siendo moléculas de desecho para dicha población (Dijkstra et al., 2005). Mientras que para el rumiante estos AGV son una importante fuente de energía, representando para los ovinos el 50-60% de la energía digestible total del tracto gastrointestinal (Sutton, 1985). Los principales AGV son acetato, propionato y butirato, aunque también hay menores cantidades de valérico, isobutírico, isovalérico, 2-metilbutirato y trazas de otros (Dijkstra et al., 2005).

Los carbohidratos de la dieta como celulosa, hemicelulosa, pectina, almidón y azúcares solubles, son los principales sustratos de esa fermentación. Estos son degradados a hexosas y pentosas para luego ser fermentados a ácidos grasos volátiles vía piruvato. Además de los carbohidratos de la dieta, los lípidos y las proteínas también dan origen a AGV en el rumen. La contribución que tienen los lípidos es muy pequeña ya que estos están en bajas proporciones en la dieta y solo los compuestos como el glicerol o la galactosa provenientes de la hidrólisis de lípidos pueden ser fermentados, no siendo así para los ácidos grasos de cadena larga (Dijkstra et al., 2005).

Por otro lado, las proteínas de la dieta pueden ser una gran fuente de AGV cuando se suministran dietas con proteína altamente degradable en el rumen. La proteína es hidrolizada a aminoácidos los cuales son desaminados antes de pasar a AGV. De particular importancia es la formación de los ácidos isobutírico, isovalérico y 2-metilbutirato a partir de valina, leucina e isoleucina respectivamente, ya que estos AGV son factores esenciales para el crecimiento de ciertas especies de bacterias en el rumen (Dijkstra et al, 2005).

Absorción y metabolismo de AGV en el rumen

La mayoría de los AGV producidos en el rumen son absorbidos a través de la pared ruminal, aunque una proporción (10-20% en el ovino y hasta 35% en el ganado lechero) pasan al omaso y abomaso y son absorbidos desde estos órganos (Dijkstra

et al., 2005). La absorción a través de las paredes ruminales es por difusión simple, presentando una relación lineal entre concentración de AGV y absorción neta (Freer y Dove, 2002). Este proceso al ser concentración dependiente, es por lo tanto generalmente mayor para acetato que para propionato y menor para butirato, pero por unidad de concentración los rangos de absorción de los tres ácidos son muy similares (Dijkstra et al., 2005).

Factores que afectan la producción de AGV

La concentración total de AGV en el rumen refleja el balance entre la tasa de producción de los ácidos y la tasa de absorción. Inmediatamente después de comer la tasa de producción supera la de absorción y las concentraciones de AGV aumentan, pero luego la situación se revierte y las concentraciones caen (Dijkstra, 2005). Además, la concentración total de AGV y las concentraciones relativas de cada ácido también varían según el tipo de dieta de los animales (McDonald et al., 1999).

El perfil de fermentación está determinado por la composición de la población microbiana, la cual está ampliamente determinada por la dieta basal, particularmente por el tipo de carbohidratos de la dieta (Dijkstra et al., 2005). Cuando el animal consume pasturas fibrosas maduras se estimula el crecimiento de bacterias productoras de ácido acético, llegando a alcanzar el 70% del total de AGV. En cambio, dietas ricas en almidón como son los concentrados aumentan las bacterias productoras de ácido propiónico, aumentando así las concentraciones de propionato a expensas del acetato. Aun así, en la gran mayoría de las dietas el ácido acético es el que se encuentra en mayor proporción (Dijkstra et al., 2005). El ácido butírico si bien también varía con la dieta, se ve menos influenciado que los otros dos (McDonald et al., 1999).

Estas variaciones en las proporciones de AGV según la composición química de la dieta se demuestra en un ensayo realizado por Pérez-Ruchel (2006), donde los borregos que recibieron forraje cosechado en la tarde presentaron menores concentraciones de ácido acético que los del tratamiento de la mañana. Esta diferencia se atribuyó a que el forraje cortado de la tarde presentó mayor contenido de carbohidratos solubles, y por tanto disminuyó la proporción de ácido acético dentro del total de AGV. Además del tipo de carbohidrato de la dieta, otros factores como la forma física de la dieta, el nivel de consumo, la frecuencia de alimentación y el uso de aditivos químicos también afectan el patrón de fermentación (Dijkstra et al., 2005).

2.3.6. Metano

Durante la digestión ruminal, el metano es uno de los productos derivados de la fermentación ruminal (Methol, 2005). Esta fermentación se lleva a cabo por los microorganismos ruminales, dentro de ellos hay un grupo específico encargado de la producción de metano a partir de CO_2 y H_2 . Estos pertenecen al dominio Archaea, dentro del cual hay tres familias principales: Metanobacteriaceae (predominan en vacunos), Metanomicrobiaceae (predominan en ovinos) y Metanoplanaceae (Freer y Dove, 2002).

A diferencia de los AGV, el metano no es usado como fuente de energía por el rumiante, y por el contrario se considera una pérdida de energía digestible y un residuo, que es finalmente eliminado del organismo mediante la eructación y respiración. El alimento tiene alto tiempo de permanencia en el rumen, variando entre 8 horas y hasta más de 30 horas según dietas con alta o baja digestibilidad de la fibra respectivamente. La mayor permanencia del alimento en el tracto digestivo lleva a una mayor fermentación del mismo y por ende a una mayor producción de metano por unidad de materia seca (Methol, 2005).

Generalmente a medida que aumenta la digestibilidad del alimento ingerido, la emisión de metano disminuye. Existen dos mecanismos que varían la producción del mismo: la cantidad de carbohidratos fermentados en el rumen y la disponibilidad de hidrógeno para la producción del gas (Johnson y Johnson, 1995). En ganado alimentado con forraje de baja calidad, hay una gran cantidad de nutrientes esenciales para la microbiota ruminal que están en déficit y por tanto el crecimiento bacteriano en el rumen es menor. En estas condiciones el metano producido representa el 15-18% de la energía digestible; pero una corrección de estos factores deficientes baja este porcentaje hasta un 7% (Leng, 1993).

Nivel de consumo y emisión de metano

La relación entre el nivel de consumo y la emisión de metano fue estudiada, por ejemplo, en un ensayo experimental realizado por De Barbieri, Hegarty, Li y Oddy (2015), donde observaron que la producción diaria de metano fue mayor en aquellos borregos que consumían mayores niveles de forraje en relación a los que consumían menos; esto se explicaría en que en los animales de mayor consumo se produce una mayor cantidad de AGV y por tanto más H_2 disponible para la producción de metano. Sin embargo, el rendimiento de metano (producción de metano por kilo de materia seca ingerida) fue menor en relación a los que consumían menos cantidad, ya que el rendimiento de metano disminuye cuando una mayor cantidad de cualquier tipo de carbohidrato es fermentada en el rumen.

Estos mismos resultados en cuanto a nivel de consumo y emisión de metano fueron hallados en un ensayo realizado por Muir et al. (2021). Aquí además de relacionar la emisión de metano con el nivel de consumo también se la relacionó con el tiempo transcurrido entre la última comida y el momento de la medición, obteniendo como resultado que este último factor afectaba tanto la emisión total de metano como el rendimiento del mismo. Los animales que consumían menos alimento tenían mayor tiempo transcurrido entre la última ingesta y el momento de la medición, y su producción total de metano era menor, pero la producción por kilo de MS ingerida era mayor. Coincidiendo así estos resultados con las conclusiones de Johnson y Johnson (1995) en las cuales, a altos niveles de consumo de dietas de alta digestibilidad, la fracción de metano emitida es menor. La explicación radica en que a menor nivel de consumo hay menor tasa de pasaje, por tanto, mayor degradabilidad del alimento (sobre todo de las fracciones que necesitan más tiempo para degradarse) en rumen y mayor emisión de metano por kg de MS ingerido.

Naturaleza del alimento y su efecto en la producción de metano

Los carbohidratos influyen en la emisión de metano dado que alteran el pH y la flora ruminal (Johnson y Johnson, 1995). Altas producciones de metano se asocian más a la degradación de carbohidratos estructurales que a no estructurales y a cambios de una fermentación de tipo propiónica a una de tipo acetogénica y por lo tanto metanogénica en el rumen (Moe y Tyrrell, 1979). La degradación de paredes celulares determina una mayor pérdida de metano, pero cuando estas disminuyen y aumenta la proporción de carbohidratos solubles, estos resultan más metanogénicos que el almidón (Johnson y Johnson, 1995). A pesar de que la producción de metano está condicionada por la naturaleza de los carbohidratos ingeridos, este efecto es menos importante que el que determina el nivel de consumo (Moe y Tyrrell, 1979).

En ensayos realizados por Hammond et al. (2013), se evaluó la producción de metano de ovejas alimentadas con trébol blanco (*Trifolium repens*) o raigrás (*Lolium perenne*) a distintos niveles de consumo; y se concluyó que el aumento en el nivel de consumo de MS aumentó la producción total de metano, y disminuyó la producción de metano por kg de MS consumida. Aunque hay una disminución del rendimiento de metano (metano producido/kg MS ingerido) con altos niveles de consumo de trébol blanco comparado con raigrás, los efectos en la composición de la dieta resultaron tener poca influencia en la cantidad de metano producido.

Por su parte, las dietas concentradas, con elevado contenido de almidón y bajo de fibra, favorecen el desarrollo de las bacterias que producen ácido propiónico y reducen el desarrollo de la microbiota metanógena; ya que aumentan la concentración de hidrógeno en el rumen y bajan el pH (5,7 o menos). Este descenso en el pH inhibe la acción de los microorganismos metanogénicos y disminuye la producción de metano (McAllister, Cheng, Okine y Mathison, 1996).

Emisiones de metano y su relación con el cambio climático

Uno de los temas de mayor interés mundial en la actualidad es el Cambio Climático, el cual se atribuye en gran medida a la actividad humana que resulta en la emisión de gases de efecto invernadero (GEI: vapor de agua, dióxido de carbono, óxido nitroso, metano y ozono). Uruguay tiene únicamente una participación del 0,04% de las emisiones globales de GEI. Del total de emisiones de GEI nacionales, 47,5% corresponden a las emisiones netas de metano; y el sector Agricultura, Silvicultura y otros Usos de la Tierra (AFOLU) es el responsable del 93,4% de dichas emisiones de metano. A su vez, el sector AFOLU generó el mayor aporte a las emisiones totales de GEI (sin considerar las categorías que presentan remociones netas) con un 75,4%; dentro del cual la fermentación entérica representa 46,1% de las emisiones nacionales [Ministerio de vivienda y ordenamiento territorial (MVOTMA) y Sistema Nacional de Respuesta al Cambio Climático territorial (SNRCC), 2019].

Sin embargo, a nivel mundial se estima que los rumiantes inciden en menos de un 2% en la problemática ambiental. Pero la mitigación igualmente es deseada ya que el ganado pierde hasta un 6-7% de su energía ingerida mediante la eructación de metano, por lo tanto, la disminución en su producción aumentaría la eficiencia productiva (Johnson y Johnson, 1995; Leng, 1993).

2.3.7. NH₃ en rumen

Las materias nitrogenadas de los alimentos pueden subdividirse en dos categorías: las proteínas y los compuestos nitrogenados no proteicos (González, 1990). La mayoría de las proteínas de los alimentos son digeridas por los microorganismos del rumen mediante la hidrólisis hasta llegar a péptidos y aminoácidos (aa). A su vez, luego pueden ser degradadas hasta ácidos orgánicos, NH₃ y CO₂ (McDonald et al., 1999). Los constituyentes no proteicos son degradados muy rápidamente y casi en su totalidad en NH₃. Posteriormente, estos productos son utilizados por los mismos microorganismos ruminales para generar su propia proteína. Las cantidades de energía y de compuestos nitrogenados simples disponibles en rumen son los dos factores principales que condicionan dicha síntesis proteica (González, 1990).

La proteína microbiana como componente de la pared celular bacteriana, es posteriormente digerida y absorbida en abomaso e intestino delgado, respectivamente (McDonald et al., 1999). A pesar de que la mayoría de la proteína que llega al intestino delgado es de origen bacteriano y tiene alto valor nutricional para el rumiante, también llegan proteínas sobre pasantes. Estas proteínas, escapan de la degradación ruminal llegando directamente al intestino delgado para ser absorbidas (Forbes, 2007).

En los rumiantes la proteína de la dieta puede ser sustituida por nitrógeno no proteico ya que la microbiota puede utilizarlo para producir proteína microbiana, así como también puede reciclar la urea proveniente del organismo del animal (Forbes, 2007). En el rumen, la urea es hidrolizada rápidamente a NH₃, pudiendo ser usada para la síntesis de proteínas microbianas, participando así en el suministro de aa para el organismo. Este reciclaje de la urea aumenta con la disminución del contenido de NH₃ en rumen, por ejemplo, cuando el alimento tiene bajo contenido de proteína degradable (González, 1990).

El NH₃ ruminal es un factor clave para la síntesis de proteína microbiana, incluso indispensable para las bacterias celulolíticas y constituye el origen del 50 al 80% de las proteínas bacterianas (González, 1990). Valores de NH₃ ruminal entre 5-20 mg/dl son considerados óptimos para la síntesis de proteína microbiana (Pérez-Ruchel, 2006). La concentración de NH₃ en el rumen depende de su tasa de entrada y eliminación (Nolan y Dobos, 2005). Parte del NH₃ ruminal que no es utilizado por los microorganismos del rumen, se absorbe por la pared ruminal, otra fracción no ionizada se concentra en el líquido ruminal y otra fracción menor continúa su paso por el tracto digestivo (Freer y Dove, 2002). A su vez, la captación de NH₃ por las bacterias ruminales aumenta con el incremento de la cantidad de materia orgánica fermentada (González, 1990). Si la producción de NH₃ excede a la síntesis de proteína microbiana, pasa a la sangre y se convierte en urea que es excretada por vía renal o vuelve al rumen a través de la saliva. En cambio, si hay baja concentración de NH₃ ruminal (debido a mucha proteína sobre pasante o bajo aporte de proteína en dieta) el crecimiento bacteriano será lento y retrasará la degradación de carbohidratos (McDonald et al., 1999).

Por su parte, el pool de nitrógeno ruminal tiende a aumentar en el período de 2-4 horas post ingesta. Cabe señalar que la reserva de NH₃ en el rumen es relativamente

pequeña, ya que el NH_3 es removido y utilizado rápidamente, aun cuando los animales tienen acceso *ad libitum* al alimento. En este sentido, se encontraron mayores variaciones en las concentraciones de NH_3 en el rumen de animales que eran alimentados una o dos veces al día (Nolan y Dobos, 2005). A su vez, la concentración de NH_3 ruminal también se verá afectada por la fuente de nitrógeno de la dieta (NNP o proteína verdadera) (Kozlowski et al., 2009).

En síntesis, la relación entre la oferta de campo natural, el consumo de nutrientes, el ambiente ruminal y las emisiones de metano han sido poco estudiadas en las condiciones de nuestro país. Por tanto, creemos relevante generar información sobre el impacto de diferentes niveles de oferta de campo natural en borregos y su relación con el ambiente ruminal y las emisiones de metano.

3. HIPÓTESIS

A medida que aumenta la oferta de forraje de campo natural los borregos aumentarán el consumo de forraje y las emisiones de metano hasta niveles de oferta de 2,5% del peso vivo. El ambiente ruminal variará alcanzando mayores concentraciones de AGV en aquellos animales de mayor consumo, sin grandes variaciones en el pH ni en la concentración de NH_3 en el líquido ruminal.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Estudiar el efecto sobre el consumo, la digestibilidad de nutrientes y el ambiente ruminal de ovinos consumiendo diferentes niveles de oferta de forraje de campo natural.

4.2. Objetivos específicos

Estudiar el efecto sobre el consumo y la digestibilidad de nutrientes en borregos alimentados con distintos niveles de oferta de forraje de campo natural (1,5%, 2%, 2,5% del peso vivo y *ad libitum*) y alojados en jaulas metabólicas.

Estudiar el efecto de diferentes niveles de oferta de forraje de campo natural (1,5%, 2%, 2,5% del peso vivo y *ad libitum*) sobre el pH, la concentración de AGV, NH_3 ruminal y las emisiones de metano en borregos alojados en jaulas metabólicas.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se llevó a cabo en la Unidad Experimental Glencoe de INIA Tacuarembó (Paysandú, Uruguay) en los meses de enero y febrero de 2020. Todos los procedimientos utilizados fueron aprobados por CEUA con el número de registro INIA 2019.10.

5.1. Animales y diseño experimental

Se utilizaron 16 borregos Corriedale de 13-15 meses de edad con un PV inicial promedio de 44,4 kg. Previo al ensayo, los animales estuvieron pastoreando campo natural, y 10 días antes del inicio del experimento fueron desparasitados.

Los animales fueron alojados individualmente en jaulas metabólicas (Figuras 1 y 2) y asignados aleatoriamente, a uno de cuatro niveles de oferta de campo natural (tratamientos):

T1: 15 g MS/ kg PV

T2: 20 g MS/kg PV

T3: 25 g MS/kg PV

T4: *ad libitum*

En el T4 se ofreció una cantidad de forraje 20% superior a la capacidad potencial de consumo, estimada previamente durante los primeros cinco días de alojamiento en las jaulas.

Se realizaron dos períodos experimentales consecutivos (A y B) con un intervalo de 7 días entre los mismos. Cada uno tuvo una duración de 15 días, con 10 días de acostumbramiento y 5 días de mediciones (Figura 3). Los mismos 16 animales (4 animales por nivel de oferta) estuvieron en ambos períodos, habiendo pasado cada animal por 2 diferentes tratamientos al final del ensayo ($n = 32$).

La oferta de forraje fue realizada en dos comidas iguales diarias (8:00 y 17:00 h). El forraje necesario para la alimentación de la tarde y la mañana siguiente fue cortado y cosechado (sin picar) previo a la comida de la tarde con una pastera modificada con un cajón para la recolección del material cortado. La conservación del forraje durante la noche se hacía en un refrigerador (0 hasta 4°C) en bolsa abierta. Los animales tuvieron libre acceso a un bebedero individual con agua de buena calidad.



Figura 1. Foto de las instalaciones del ensayo.



Figura 2. Foto de un borrego en su jaula metabólica.

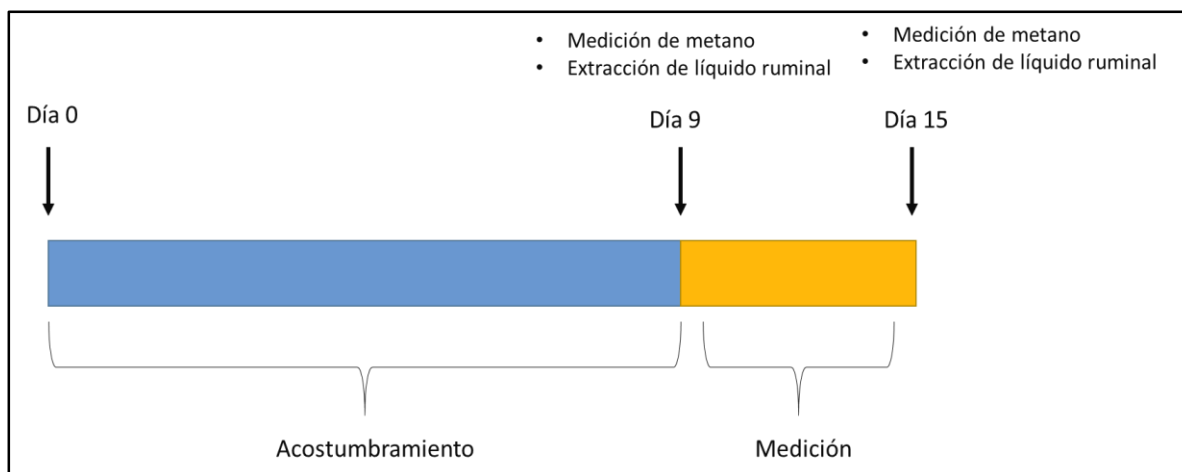


Figura 3. Representación esquemática de un período.

5.2. Determinaciones y muestreos

5.2.1. Caracterización de la estructura del campo natural

Se realizó una caracterización del campo natural a través de las siguientes mediciones al inicio de cada período de colecta:

Altura: fueron realizadas 100 medidas de altura en la pastura sobre el área total del potrero que se hizo el corte. Para eso fue utilizado un 'sward stick' (Barthram, 1985).

Masa de forraje: para estimar la disponibilidad de forraje se realizaron 5 cortes (cuadro de 20 × 50 cm) al nivel del suelo con tijera eléctrica en lugares aleatorios. El forraje cortado fue secado en estufa de aire forzado (55°C) hasta peso constante para estimar la cantidad de materia seca (MS) parcial por hectárea. La MS final por hectárea fue calculada basada en la MS parcial de las muestras del material ofrecido a los animales secadas a 105°C hasta peso constante.

Composición botánica: se estimó utilizando el método Botanal (Tothill, Hargreaves y Jones, 1978). En detalle, dentro de un cuadro (20 medidas en el área) de 1 m² se registraron las especies presentes y se calculó la frecuencia de cada una de ellas (%).

Índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI): se estimó el índice verde con un GreenSeeker® (Trimble®).

5.2.2. Consumo y digestibilidad de materia seca, orgánica y nitrógeno

El consumo diario de alimento fue medido durante los 15 días, pesando las cantidades de alimento ofrecidas y rechazadas por los animales. En los 5 días de mediciones el forraje ofrecido fue muestreado por la mañana y por la tarde. Una mitad de la muestra fue colocada en refrigerador para posterior separación morfológica y la otra mitad fue colocada diariamente en estufa de aire forzado (55°C) por 72 h, para análisis de composición química. Diariamente, fue colectado el rechazo de alimento de cada animal, y se realizó el secado en estufa de aire forzado (55°C) por 72 h. Luego del

período de colecta, las 5 muestras secas del rechazo de cada animal fueron agrupadas en una muestra por animal para análisis de composición química.

Para la estimación de la digestibilidad, se colectó el total de heces diariamente para cada animal durante los 5 días de medición. El método de colecta fue utilizando pañales con bolsas de *nylon* colectoras, que todas las mañanas eran vaciadas en bolsas de nylon pre etiquetadas para cada animal; y una bolsa limpia era colocada en el pañal. Las muestras de heces de cada animal fueron pesadas en fresco, mezcladas, y posteriormente un 20% del total fue muestreado y secado en estufa de aire forzado (55°C) por 96 h. Al final de los 5 días, obtuvimos 5 muestras de heces por animal; estas muestras fueron agrupadas en 1 muestra de heces por animal. Cada muestra de heces fue molida (1 mm), bien mezclada y almacenada en frasco, para después ser enviada al laboratorio del IPAV para realizar análisis químico.

5.2.3. Ambiente ruminal (pH, AGV, NH₃)

Las colectas de contenido ruminal fueron realizadas los días 9 y 15 de cada período (Figura 3). Teniendo 2 muestras de contenido ruminal por animal en cada período, lo que nos da un n total de 64 muestras en todo el ensayo. El contenido fue colectado mediante una sonda esofágica luego de 4 h de realizada la oferta de alimento de la mañana. Fueron extraídos 15 ml de contenido ruminal de cada cordero. Se midió inmediatamente el pH ruminal, utilizando un pH metro digital (marca y modelo: HANNA HI8424). Dos muestras de cada extracción (1 ml) fueron mezcladas con 0.02 ml de ácido sulfúrico (50%, v/v) y con 1 ml de ácido perclórico (0,1 M), respectivamente, y se rotularon y congelaron (-20°C) para su posterior determinación de las concentraciones de N-NH₃ y de ácidos grasos volátiles (AGV), respectivamente.

5.2.4. Emisiones de metano, dióxido de carbono y oxígeno

Fueron realizadas 2 evaluaciones: una al día 9 y otra al día 15 de cada período (Figura 4); obteniendo así 2 mediciones por animal en cada período. Las mediciones se realizaron en la mañana, luego de 2-4 horas de haber suministrado el alimento a los animales. Para ello se utilizaron 8 cámaras de acumulación portátiles de 861 lt de volumen promedio (Figura 3) (Goopy, Woodgate, Donaldson, Robinson y Hegarty, 2011; Robinson et al., 2014; Goopy et al., 2016; Paganoni et al., 2017).

Se hicieron dos tandas de mediciones con 8 animales en simultáneo y previo a poner los animales en la cámara se hizo una medición para asegurarse que los valores atmosféricos de metano, oxígeno y dióxido de carbono fueran los mismos que dentro de las cámaras vacías. La determinación de los gases fue realizada a los 20 y 40 minutos luego de colocado el animal dentro de la cámara (tiempo 0) mediante el equipo Eagle II (RKI Instruments Inc., CA, USA). Paralelamente se determinó la presión atmosférica y temperatura en el sitio, y la concentración de los gases en el aire. En cada medición, la recuperación de gas en cada cámara fue chequeada (leak test), donde las recuperaciones fueron superiores a 95% (de 1200 ppm de butano y propano). Entre las dos rondas de mediciones se chequeó que las concentraciones de los gases de las cámaras hubieran bajado y se encontrarán nuevamente iguales a las del ambiente.

La concentración de metano fue expresada en gramos a presión y temperatura estándar (STP) por animal y por día. En el cálculo el volumen de la cámara real fue descontando el volumen del animal, según PV y el nivel de agua en el piso, usada como aislante.



Figura 4. Foto de los animales en las cajas de medición de gases.

5.3. Análisis químicos

Las muestras de forraje (ofrecido y rechazado), y las muestras de heces fueron analizadas para MS (procedimiento 934.01), cenizas (procedimiento 967.05), extracto etéreo (procedimiento 920.39) y proteína cruda (mediante el método Kjeldahl y multiplicando el N x 6,25; procedimiento 984.13) de acuerdo con la AOAC (2000). La FDN y FDA se analizó de acuerdo con Van Soest, Robertson y Lewis (1991) utilizando un equipo ANKOM A 2000 I.

Las concentraciones de AGV (acético, propiónico y butírico) fueron analizadas por cromatografía de acuerdo con Adams, Jones y Conway (1984) utilizando un HPLC (Dionex Ultimate® 3000, Waltham, MA, USA) con una columna Acclaim Rezex Organic Acid H+ (8%), 7,8 x 300 mm y 210 nm. del laboratorio del IPAV, Facultad de Veterinaria (UdelaR). Las concentraciones de AGV fueron expresadas en términos absolutos (mM) y % en relación a la concentración de AGV totales, siendo estas últimas la sumatoria de las concentraciones de acético, propiónico y butírico.

La concentración de NH_3 de las muestras de líquido ruminal fue analizada por espectrofotometría de acuerdo a Weatherburn (1967), utilizando un espectrofotómetro Unico 1200 series (United Products & Instruments, Inc., NJ, EEUU). Para leer la absorbancia de las muestras utilizamos un espectrofotómetro de onda 625 nm del Laboratorio IPAV de la Facultad de Veterinaria. Para su interpretación, los valores de absorbancia de cada muestra fueron relacionados con los de la curva padrón (utilizando la herramienta Excel).

5.4. Análisis estadístico

El presente ensayo forma parte de un trabajo más amplio con un diseño de cuadrado latino, el cual consta de cuatro períodos y cuatro tratamientos, y donde cada animal

es evaluado una vez en cada tratamiento según el periodo. En los periodos que nosotras no participamos fueron en los primeros dos, y en ellos no se midieron emisiones de gases.

Los datos fueron analizados mediante el software estadístico SAS (Versión 9.4. SAS Institute, Cary, NC, USA). Las variables de respuesta fueron analizadas con un modelo general lineal, considerando el efecto fijo del tratamiento, el período y su interacción:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_k + A_{ik} + e_{ijk},$$

donde Y_{ijk} es la variable dependiente, μ es la media general, T_i el efecto fijo del tratamiento ($i = T1, T2, T3$ o $T4$), P el efecto fijo del periodo ($j = 1$ o 2), A_{ik} el efecto de la interacción del tratamiento con el período y e_{ijk} el error residual.

Los animales fueron asignados al azar a cada tratamiento y jaula metabólica, considerando 4 bloques dentro del galpón de estudios de metabolismo, estando cada tratamiento representado en cada bloque. En la siguiente prueba los animales fueron nuevamente asignados al azar a otro tratamiento distinto del anterior. Las diferentes estimaciones de cada variable estudiada se promediaron para su análisis. Las medias, errores estándar y niveles de significancia se presentarán para cada variable estudiada.

Se consideraron diferencias significativas cuando $P < 0,05$ utilizando el test T de student.

6. RESULTADOS

6.1. Caracterización de la pastura y animales utilizados

El promedio de PV inicial de los borregos fue de 45,0 y 44,6 kg para el período A y B respectivamente ($P > 0,05$).

Las características estructurales, composición morfológica y química del campo natural ofrecido a los borregos pueden ser vistas en la Tabla 1. Las medias estimadas de variables estructurales, altura (9,9 cm) y masa de forraje (1953 kg MS/ha), y el NDVI (0,53) fueron iguales en ambos periodos (A y B) ($P > 0.05$). La misma respuesta pasó con la composición morfológica del campo natural, o sea, en ambos periodos las medias estimadas de la fracción verde (75,6%), seca (21,5%) y otros componentes (2,9%) fueron iguales.

Con relación a la composición química del forraje ofrecido a los animales, las medias estimadas del contenido de MS (46%) y FDN (63,6%) no presentaron diferencias entre los periodos, pero el contenido de PC del forraje fue menor para el período B comparado con el período A, mientras que el contenido de la FDA, del extracto etéreo y de la materia orgánica del forraje fueron mayores en el periodo B comparado con el período A ($P < 0.05$) (Tabla 1).

Tabla 1. Características estructurales, composición morfológica y composición química del campo natural ofrecido a los borregos.

	Período			
	A	B	EEM	P
<u>Características estructurales</u>				
Altura de forraje (cm)	9,9	9,9	0,36	ns
Masa de forraje (kg MS/ha)	2144	1762	184,5	ns
NDVI	0,54	0,51	0,011	ns
<u>Composición morfológica (%)</u>				
Gramíneas fracción verde	74,6	76,7	3,00	ns
Gramíneas fracción seca	22,5	20,5	0,00	ns
Otros componentes	2,9	2,8	1,36	ns
<u>Composición química (% MS)</u>				
Materia seca (% MF)	45,7	46,2	0,22	ns
Materia orgánica	82,3	83,1	0,12	< 0,01
Proteína cruda	8,6	7,9	0,16	< 0,01
FDN	63,4	63,7	0,25	ns
FDA	39,8	40,9	0,17	< 0,01
Extracto etéreo	1,9	2,4	0,04	< 0,01

Nota. NDVI: *Normalised differentiated vegetation index*, MF: *materia fresca*, MS: *materia seca*, FDN: *Fibra soluble en detergente neutro*, FDA: *Fibra soluble en detergente ácido*, EEM: *error estándar de las medias*, P: *probabilidad estadística*, ns: *no significativo* ($P > 0,05$).

En cuanto a la composición botánica, las especies más abundantes fueron *Coelorhachis selloana*, *Paspalum dilatatum*, *Paspalum notatum* y *Bothriochloa laguroides*; representando el 60% del total de las especies, independientemente del período.

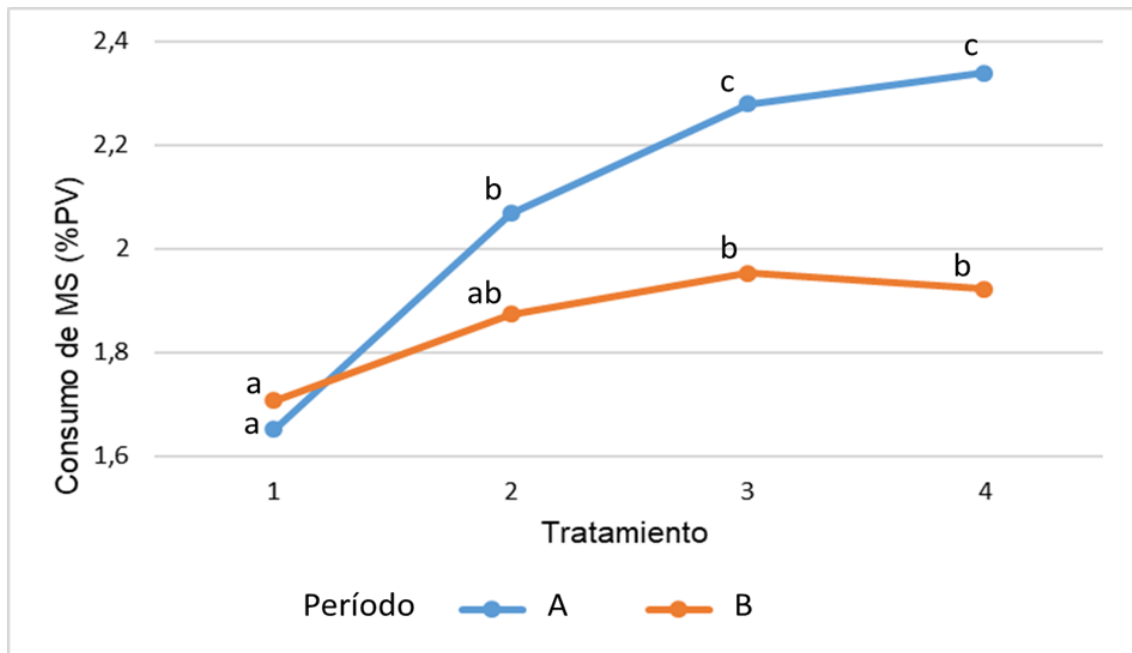
6.2. Consumo y digestibilidad del forraje

El consumo de MS (% del PV) aumentó a medida que fue incrementado el nivel de oferta ($P < 0,01$), sin observarse diferencias entre los tratamientos T3 y T4 (Tabla 2). Se observaron diferencias entre períodos ($P < 0,01$), en el consumo de alimento y en la digestibilidad del forraje. Tanto el consumo de MS, MO y PC como la digestibilidad fueron mayores para el período A en comparación al período B. Para todas las variables de oferta y consumo se registró interacción entre período y tratamiento ($P < 0,01$). El consumo de MS, MO y PC (g/d o %PV) en el período A fue menor en el T1 ($P < 0,05$), seguido por el T2 y ambos diferentes ($P < 0,05$) de los otros dos tratamientos que fueron iguales entre sí ($P > 0,05$). Sin embargo, en el período B, el T1 fue igual al T2 y diferente del T3 y T4, mientras que el T2, T3 y T4 fueron iguales entre sí (Figura 5).

Tabla 2. Oferta de forraje, consumo y digestibilidad en borregos alimentados con diferentes ofertas de campo natural según tratamiento y período experimental.

	Tratamiento						Período				P×T
	T1	T2	T3	T4	<i>EEM</i>	<i>P</i>	A	B	<i>EEM</i>	<i>P</i>	
<u>Oferta de forraje</u>											
MF (g/d)	1655 ^a	2311 ^b	3010 ^c	3657 ^d	69,5	<0,01	2712 ^a	2605 ^a	49,1	ns	<0,01
MF (%PV)	3,9 ^a	5,2 ^b	6,5 ^c	8,1 ^d	0,05	<0,01	6,0 ^a	5,8 ^b	0,03	<0,01	<0,01
MS (g/d)	760 ^a	1061 ^b	1383 ^c	1678 ^d	31,9	<0,01	1240 ^a	1202 ^a	22,6	ns	<0,01
MS (%PV)	1,8 ^a	2,4 ^b	3,0 ^c	3,7 ^d	0,02	<0,01	2,73 ^a	2,69 ^b	0,02	<0,05	<0,01
<u>Consumo</u>											
MS (g/d)	716 ^a	884 ^b	987 ^c	959 ^c	25,6	<0,01	942 ^a	831 ^b	18,1	<0,01	<0,01
MS (%PV)	1,7 ^a	2,0 ^b	2,1 ^c	2,1 ^c	0,04	<0,01	2,1 ^a	1,9 ^b	0,03	<0,01	<0,01
MO (g/d)	591 ^a	728 ^b	810 ^c	781 ^{bc}	21,2	<0,01	770 ^a	686 ^b	15,0	<0,01	<0,01
MO (%PV)	1,4 ^a	1,6 ^b	1,7 ^c	1,7 ^c	0,04	<0,01	1,7 ^a	1,5 ^b	0,03	<0,01	<0,01
PC (g/d)	60 ^a	76 ^b	89 ^c	93 ^c	2,5	<0,01	88,8 ^a	70,2 ^b	1,78	<0,01	<0,01
<u>Digestibilidad</u>											
MS (%)	44,4 ^a	44,9 ^a	41,9 ^a	42,3 ^a	1,21	ns	47,3 ^a	39,4 ^b	0,85	<0,01	ns
MO (%)	47,4 ^a	47,9 ^a	44,9 ^a	44,8 ^a	1,19	ns	50,7 ^a	41,8 ^b	0,84	<0,01	ns
PC (%)	51,6 ^a	51,6 ^a	51,5 ^a	53,5 ^a	1,28	ns	57,4 ^a	46,7 ^b	0,91	<0,01	ns

T1: 15 g MS/kg PV, T2: 20 g MS/kg PV, T3: 25 g MS/kg PV, T4: ad libitum; EEM: error estándar de las medias, P: probabilidad estadística, ns: no significativo ($P > 0,05$), P×T: interacción período-tratamiento, MF: materia fresca, MS: materia seca, MO: materia orgánica, PC: proteína cruda, PV: peso vivo. Letras diferentes en una misma fila dentro de factor (tratamiento o período) denotan diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$).



Letras diferentes denotan diferencias significativas entre tratamientos ($P > 0,05$).

Figura 5. Consumo de materia seca (% del peso vivo) de borregos alimentados con campo natural según tratamiento y período experimental.

6.3. Ambiente ruminal

El pH ruminal y el N amoniacal fueron diferentes entre períodos ($P < 0,01$), pero no entre los tratamientos. El ácido butírico difirió entre períodos, con valores mayores para el período A que para el B ($P < 0,05$) pero no entre tratamientos. Los valores de ácido butírico fueron similares a los del ácido propiónico. El ácido acético fue predominante con respecto al propiónico y butírico, presentó valores hasta tres veces mayores que los otros dos ácidos, y los valores del mismo se mantuvieron por encima de estos durante todos los tratamientos y períodos, pero sin diferencias significativas entre los mismos.

Tabla 3. Parámetros ruminales de borregos alimentados con diferentes niveles de oferta de campo natural y en diferentes períodos experimentales.

	Tratamiento						Período				P×T
	T1	T2	T3	T4	EEM	P	A	B	EEM	P	
pH	6,9	7,0	6,9	7,0	0,04	ns	6,9 ^a	7,1 ^b	0,03	<0,01	ns
NH ₃ (mg/dl)	4,4	5,2	4,5	4,2	0,51	ns	3,68 ^a	5,41 ^b	0,36	<0,01	ns
AGV totales (mM)	41,7	38,9	42,9	44,6	4,04	ns	45,0 ^a	39,1 ^b	2,86	ns	ns
Ácido acético (mM)	26,3	24,3	27,5	28,2	2,77	ns	28,5 ^a	24,6 ^b	1,96	ns	ns
Ácido propióni co (mM)	7,0	7,1	7,3	7,9	0,82	ns	7,3 ^a	7,4 ^b	0,58	ns	ns
Ácido butírico (mM)	8,4	7,6	8,2	8,6	0,83	ns	9,3 ^a	7,1 ^b	0,59	<0,05	ns

T1:15 g/kg PV, T2: 20 g MS/kg PV, T3: 25 g MS/kg PV, T4: oferta ad libitum; EEM: error estándar de la media, P: probabilidad estadística, ns: no significativo ($P > 0,05$), P×T: interacción período-tratamiento, AGV: ácidos grasos volátiles. Letras diferentes en la misma fila dentro de factor (tratamiento o período) denotan diferencias significativas ($P < 0,05$).

6.4. Emisiones de metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂)

La producción total de metano aumentó a medida que aumentó el nivel de oferta de forraje, mostrando diferencias entre tratamientos ($P < 0,01$), con excepción del T4 en el que la producción fue similar a la del T2. En cambio, el rendimiento de metano no fue significativamente diferente entre períodos ni entre tratamientos (Tabla 4). En suma, la producción total de metano si difirió entre tratamientos, pero no entre períodos.

Tabla 4. Emisiones (g/a/d) de metano y dióxido de carbono en borregos alimentados con diferentes niveles de oferta de campo natural y en diferentes períodos experimentales.

	Tratamiento						Período				P×T
	T1	T2	T3	T4	EEM	P	A	B	EEM	P	
CH ₄	16,6 ^a	18,4 ^b	21,2 ^c	19,2 ^b	0,52	<0,01	19,1 ^a	18,6 ^a	0,37	ns	ns
CH ₄ ^{CMS}	18,2 ^a	18,8 ^a	20,5 ^a	17,9 ^a	0,88	ns	18,9 ^a	18,8 ^a	0,45	ns	ns
CO ₂	561 ^a	631 ^{ab}	721 ^c	648 ^{bc}	29,4	<0,01	672 ^a	609 ^b	20,8	<0,05	ns

T1:15 g MS/kg PV, T2: 20 g MS/kg PV, T3: 25 g MS/kg PV, T4: ad libitum; CH₄^{CMS}: gCH₄ ; EEM: error estándar de la media, P: probabilidad estadística, ns: no significativo (P >0,05), P×T: interacción período-tratamiento. Letras diferentes en una misma fila dentro de factor (tratamiento o período) denotan diferencias estadísticas significativas (P< 0,05).

7. DISCUSIÓN

El aumento de la oferta de campo natural en los niveles evaluados (1,5%, 2%, 2,5% del peso vivo y *ad libitum*) determinó un aumento en el consumo y en las emisiones de metano hasta el nivel de oferta de 2 o 2,5% del PV según el período evaluado. Esta diferencia entre períodos podría estar relacionada a la composición química del forraje ofrecido. Sin embargo, estas variaciones en el consumo no permitieron incrementar la concentración de AGV como era esperado según la hipótesis planteada. El contenido de materia seca de la pastura, y su contenido de pared celular condicionan el espacio que ocupa el alimento dentro del rumen, y la tasa de pasaje (Zereu, 2016). En este trabajo, los valores máximos de consumo no superaron los 987 gMS/d, lo que representó el 2,1% del PV. Esto coincide con los valores de referencia del NRC (2007) que estima un consumo de 2,05% del PV para ovinos de 1 año y 40 kg de PV para suplir sus requerimientos de mantenimiento. En este sentido, niveles de consumo similares fueron reportados por Pérez-Ruchel (2006) al alimentar corderos en jaulas metabólicas con pradera previamente cortada, en los que los valores máximos de consumo obtenidos fueron del 2,2% del PV. La estabilización en el consumo a partir del 2 o 2,5% del PV podría estar ligada al límite de la capacidad ruminal, sobre todo considerando el contenido de FDN y FDA del campo natural ofrecido. A su vez, estos alimentos fibrosos implican mayor tiempo invertido en la rumia para poder digerir el alimento y menor tiempo dedicado al consumo (McDonald et al., 1999).

El aumento del contenido de paredes celulares y tejidos lignificados a consecuencia del envejecimiento y desarrollo de las pasturas reduce su digestibilidad y enlentece su tránsito por el aparato digestivo y por consiguiente retrasa la tasa de consumo (González, 1990). Estas afirmaciones podrían explicar las diferencias entre el consumo promedio de MS que obtuvimos entre períodos, coincidiendo mayores consumos (942 gMS/d para A vs. 831 gMS/d para B) con mayor digestibilidad de la pastura ofrecida en el mismo período (47,3% para A vs. 39,4% para B). Estas diferencias en la digestibilidad de la MS entre períodos podrían deberse al mayor porcentaje de FDA en el período B (40,9%) comparado con el período A (39,8%); ya que la fracción fibra es el principal factor que afecta a la digestibilidad (McDonald et al., 1999). De todos modos, con estos valores de digestibilidad, en ambos períodos se pudo haber limitado el consumo de forraje debido a la baja digestibilidad del mismo. Las diferencias encontradas entre períodos en digestibilidad de la MS, contenido de FDA y PC, podrían explicar la respuesta diferencial del consumo entre períodos a las diferentes ofertas de alimento. En el período B con un alimento de menor digestibilidad, menor contenido de PC y mayor de FDA, el aumento de consumo como respuesta de una mayor oferta se observó hasta el tratamiento de 2%. En este sentido, cabe señalar que la digestibilidad de la MS de las pasturas naturales varía entre las estaciones, pudiendo identificarse al verano como la estación más limitante en cuanto a porcentajes de digestibilidad, pero no de producción forrajera (Montossi et al., 2000). Por lo tanto, el consumo de MS en este ensayo podría haber estado relacionado a la época del año y en particular al avance de la estación de crecimiento, explicado por el mayor porcentaje de FDA, y una menor digestibilidad. El hecho de que el período B fuera posterior en el tiempo al período A implicó un estado más maduro del forraje, basado en el ciclo productivo (metabolismo C4, ciclo estival) de la mayoría de las especies de campo natural presentes, que es asociado a menores digestibilidades y por lo tanto menores valores nutricionales (Freer y Dove, 2002). Forrajes con

avanzado grado de madurez tienen alto contenido en lignina, y esto se asocia a menor digestibilidad de las paredes celulares (McDonald et al., 1999).

En este trabajo, tomando en cuenta que el único alimento ofrecido fue campo natural, los resultados de pH estuvieron de acuerdo a lo esperado según la bibliografía para ovinos alimentados con forraje como único alimento (Aguerre et al., 2009; Cuitiño, Persak y Vera, 2011). Por su parte, los resultados del presente ensayo no arrojaron diferencias significativas de pH ruminal entre tratamientos, pero sí entre períodos, alcanzando valores promedio mayores para el período B (7,1), mientras que para el período A fueron de (6,9). En este sentido, el pH ruminal no fluctuó en función de los distintos niveles de consumo, pero sí con el tipo de alimento (mayor porcentaje de fibra en período B). Este efecto podría estar relacionado al mayor porcentaje de fibra, que estimula tanto la rumia, como la secreción de saliva, siendo esta uno de los principales buffers fisiológicos del rumiante (Fischer et al., 1994).

Por su parte, se observaron bajos niveles de concentración de NH_3 ruminal para todos los tratamientos. Estos valores podrían estar relacionados a los bajos contenidos de proteína del campo natural ofrecido, teniendo en cuenta que el nivel de proteína del alimento influye directamente sobre la concentración de NH_3 ruminal (McDonald et al., 1999). En este sentido, en el presente ensayo, el contenido de PC del campo natural fue de 8,6 y 7,9%, para el período A y B, respectivamente. Estos valores observados, coinciden con los resultados reportados por Berretta et al. 2000 que aseveran que el contenido proteico del campo natural varía entre 6 y 15% dependiendo de la estación del año, y los valores mínimos de PC se presentan en verano. Además, cabe resaltar que en el campo natural de suelos de basalto donde fue realizado el presente experimento, las leguminosas son minoría (<5%) (Pereira, 2011), lo que podría explicar los valores de composición química, teniendo en cuenta que los valores de proteína de las leguminosas son mayores que los de las gramíneas que predominan en el campo natural. Esto explicaría en parte los valores obtenidos de NH_3 en líquido ruminal (3,68 mg/dl para el período A y 5,41 mg/dl para el período B), resultando menores en comparación con trabajos que evaluaron el uso de praderas donde se observaron valores de 17-36 mg/dl (Cuitiño et al., 2011; Elizondo, Falero y Pereira, 2007; Pérez-Ruchel, 2006). Los valores encontrados de NH_3 en rumen en este trabajo, podrían ser limitantes para un desarrollo adecuado de la microbiota ruminal, lo que a su vez podría limitar el consumo de forraje como consecuencia.

La captación de NH_3 por las bacterias para la producción de proteína microbiana aumenta con el incremento de la cantidad de materia orgánica fermentada en el rumen (González, 1990). Los microorganismos pueden utilizar proteína de la dieta, NNP o también reciclar urea proveniente del organismo (Forbes, 2007). Se podría especular diversas razones por las cuales en el periodo B se observaron mayores concentraciones de NH_3 que en el periodo A, a pesar de que en el forraje ofrecido del mismo había menor porcentaje de PC (7,9%), y mayor MO. Esto podría deberse al menor nivel de consumo alcanzado (831 gMS/d) lo que pudo llevar a una menor energía disponible para la producción de proteína microbiana, quedando mayor concentración de NH_3 libre en rumen. El NH_3 libre también puede deberse al menor aporte de proteína exógena (menor %PC en el forraje en comparación al período A) que podría demandar un mayor flujo de urea reciclada hacia el rumen en respuesta a

este menor aporte proteico de la dieta. O una combinación entre ambas situaciones descriptas.

Al analizar las concentraciones de AGV en los borregos, no observamos diferencias entre tratamientos ni entre periodos. La concentración total de AGV y las concentraciones relativas de cada ácido varían según el tipo de dieta de los animales y el tiempo desde la última comida (McDonald et al., 1999). Cabe destacar que estos valores fueron considerablemente menores (45,0 mM para el período A y de 39,1 mM para el período B) en comparación a los encontrados en el trabajo de Pérez-Ruchel (2006) que oscilaron entre los 92-95 mM para corderos alimentados con praderas. Esta diferencia podría deberse al tipo de alimento ofrecido, el cual en nuestro caso al ser campo natural en suelo de basalto y en verano, tenía una mayor proporción de FDA y FDN, y menor cantidad de carbohidratos solubles que una pradera. En relación al nivel de consumo y la concentración de AGV, en la bibliografía se reporta que la producción de AGV fue mayor en ovinos que recibieron una mayor oferta de forraje, al comparar niveles de oferta para cubrir los requerimientos de energía para mantenimiento y de 1,5 veces esos requerimientos (De Barbieri et al., 2015). Sin embargo, en nuestro trabajo, no observamos esa relación, entre consumo y concentración de AGV.

En ambos períodos y para todos los tratamientos, el ácido acético fue el de mayor concentración, obteniéndose valores hasta 3 veces mayores que los otros dos ácidos coincidiendo con Dijkstra et al. (2005) que asevera que el ácido acético se encuentra en mayor proporción en la mayoría de las dietas, especialmente cuando el animal consume pasturas fibrosas y maduras. En dietas con forraje de baja calidad en ovinos o bovinos, el ácido acético significa entre 60-68% de los AGV, el propiónico 20-25% y el butírico 10-13% (Dijkstra et al., 2005; Mc Donald et al., 2013), siendo este último el más estable ante variaciones de la dieta. Sin embargo, la concentración individual de ácido butírico en este trabajo si difirió entre períodos, siendo levemente mayor para A (9,3 mM) que para B (7,1 mM). Entre períodos cambió la digestibilidad de la MS, y se registraron leves cambios en el contenido de PC y FDA del forraje ofrecido, afectando el consumo de alimento, lo cual podría estar vinculado a este cambio en la concentración de ácido butírico.

Cabe destacar que la técnica por la cual fue colectado el líquido ruminal también podría estar influenciado los valores encontrados de pH, N-NH₃ y AGV; ya que las muestras podrían haberse contaminado con saliva a pesar de las precauciones tomadas para que esto no ocurra. A su vez, también debería tenerse en cuenta el hecho de que previo a la extracción de contenido ruminal los animales tuvieron un periodo de ayuno por la previa medición de metano, lo que también podría estar influyendo sobre los valores obtenidos.

Por otra parte, los valores de producción de metano de este ensayo estuvieron entre 16,6-21,2 g/a/d. Estos valores fueron menores a los obtenidos por De Barbieri et al. (2015) de 35,6 g/d, y Muir et al. (2021) de 15-30 g/d; pero coinciden con los obtenidos por Ulyatt y Lassey (2001) de 16-21 g/d. Además, observamos que la producción total de metano aumentó a medida que fue incrementado el nivel de oferta de MS. Estos resultados coinciden con los reportados por otros autores que estudiaron la relación entre el nivel de consumo y la emisión de metano (De Barbieri et al., 2015; Ulyatt y

Lassey, 2001; Muir et al, 2021). La explicación a esta relación se basa en que a mayor consumo de MS existe una mayor fermentación y producción de AGV, por lo tanto, más H₂ disponibles para la producción de metano (Johnson y Johnson, 1995). Esto no sucedió así para el T4 (*ad libitum*) en el que la producción fue similar a la del T2. Esto podría deberse a que el T2 y T4 tuvieron similar consumo de MO. Esto se confirma con el análisis de la emisión de metano corregida por consumo de MS, la cual no varió entre tratamientos. Por lo tanto, el nivel de consumo permitiría explicar las variaciones detectadas en las emisiones.

En cuanto al rendimiento de metano (producción de metano por kg MS ingerida) en este trabajo no se observaron diferencias. Estos resultados, no coinciden con los reportados por De Barbieri et al. (2015) y Muir et al. (2021) donde los autores observaron diferencias en el rendimiento en relación al nivel de consumo, en el que fue menor en los animales que presentaron mayores consumos. Para este efecto, la explicación radicaría en que a menor nivel de consumo hay una menor tasa de pasaje, y por tanto mayor degradabilidad del alimento en rumen y mayor emisión de metano por kg de materia seca ingerido (Johnson y Johnson, 1995). En este sentido, las variaciones en consumo registradas en nuestro trabajo no habrían sido suficientes para alterar el rendimiento en la emisión. Incluso cuando se realizó el análisis entre períodos, donde se registraron diferentes digestibilidades de la MS.

8. CONCLUSIONES

El aumento en el nivel de oferta de campo natural resultó en un aumento en el consumo de alimento por parte de los borregos, hasta niveles de oferta del 2-2,5% del PV, en donde el consumo se vio limitado debido a las características fibrosas del forraje consumido. Además, aunque los parámetros ruminales, pH, NH₃ y AGV totales, no tuvieran cambios con el aumento de la oferta de forraje, el aumento en la oferta y consecuentemente en el consumo de forraje fue acompañado por el aumento en la emisión de metano por los borregos. Por ende, la hipótesis de este trabajo se aprueba parcialmente.

Hubo diferencias entre periodos para el consumo total de MS, el pH y el N-NH₃ en rumen, lo que se adjudica posiblemente a los cambios en las pasturas, las cuales fueron más fibrosas para el periodo B.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Adams, R.F., Jones, R.L., y Conway, P.L. (1984). High-performance liquid chromatography of microbial acid metabolites. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 336(1), 125-137.
- Aguerre, M., Repetto, J.L., Pérez-Ruchel, A., Mendoza, A., Pinacchio, G., y Cajarville, C. (2009). Rumen pH and NH₃-N concentration of sheep fed temperate pastures supplemented with sorghum grain. *South African Journal of Animal Science*, 39, 246-250.
- Allen, M.S., Bradford, B.J., y Oba, M. (2009). Board-invited review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *Journal of animal science*, 87(10), 3317-3334.
- Ayala, W., y Bermúdez, R. (2005). Estrategias de manejo en campos naturales sobre suelos de lomadas en la región este. En Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (Ed.), *Seminario de Actualización Técnica en manejo de campo natural* (pp. 41-50). Montevideo, INIA.
- Barthram, G.T. (1985). Experimental techniques: the HFRO sward stick. En: The Hill Farming Research (Ed.), *Organization Biennial Report 1984/1985* (pp. 29–30). HFRO, Penicuik.
- Baumont, R. (1996). Palatability and feeding behaviour in ruminants. A review. *Annales de zootechnie* 45(5), 385-400.
- Berretta, E.J. y Bemhaja, M. (1997). Producción de pasturas naturales en el Basalto. Producción estacional del forraje de tres comunidades nativas sobre suelos de Basalto. En M. Carámbula, D. Vaz Martins, E. Indarte (Eds.), *Pasturas y producción animal en áreas de ganadería extensiva*. Montevideo: INIA Las Brujas.
- Berretta, E.J., Risso, D., Montossi, F., y Pigurina, G. (2000). Campos en Uruguay. En G. Lemaire, J. Hogdson, A. de Moraes, C. Nabinger, P.C. Carvalho (Eds.), *Grassland ecophysiology and grazing ecology* (pp. 377-394). Wallingford: CABI Publishing.
- Carámbula, M. (1988). Las pasturas de la zona norte de Uruguay. En Grupo técnico del cono sur (Ed.), *IX Reunión del Grupo Técnico Regional del Cono Sur en Mejoramiento y Utilización de las Reservas Forrajeras del Área Tropical y Subtropical: Grupo Campos y Chaco* (pp. 5-14). Tacuarembó: CIAAB.
- Carter, R.R. y Grovum, W.L. (1990). A review of the physical significance of hypertonic body fluid on feed intake and ruminal function: salivation, motility and microbes. *Journal of Animal Science*, 68(9), 2811-2832.
- Castillo-López, E., y Domínguez-Ordóñez, M.G. (2019). Factores que afectan la composición microbiana ruminal y métodos para determinar el rendimiento de la proteína microbiana. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 10(1), 120-148.
- Chilibroste, P. (2002). Evaluación de modelos detallados de rumen para predecir disponibilidad de nutrientes en sistemas intensivos de producción de leche bajo pastoreo. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 10(3), 232-240.

- Church, D.C. (1974). *Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes*. Zaragoza: Acribia
- Cottle, D.J., Nolan, J.V. y Wiedermann, S.G. (2011). Ruminant enteric methane mitigation: a review. *Animal Production Science*, 51(6), 491–514.
- Counotte, G.H.M., Van't Klooster, A.T., Van der Kuilen, J., y Prins, R.A. (1979). An analysis of the buffer system in the rumen of dairy cattle. *Journal of Animal Science*, 49(6), 1536-1544.
- Cuitiño de Vega, L.I., Persak Griot, G.L. y Vera Jorcín, R. (2011). *Ambiente ruminal y síntesis de proteína microbiana de ovinos y bovinos pastoreando pastura templada de buena calidad y suplementada con distintos niveles de grano de sorgo* (Tesis de grado). Facultad de Veterinaria, UDELAR, Montevideo.
- De Barbieri, I. (2014). *Nutritional and genetic regulation of the sheep rumen microbiome* (Tesis de doctorado). School of environmental and rural science, University of New England, Faculty of arts and sciences, New England.
- De Barbieri, I., Hegarty, R.S., Li, L., y Oddy V.H. (2015). Association of wool growth with gut metabolism and anatomy in sheep. *Livestock Science*, 173, 38-47.
- Dijkstra, J., Forbes, J.M., y France, J. (2005). *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism* (2ª ed.). UK: CABI.
- Dirección de Economía Agropecuaria [DIEA]. (2020). Anuario Estadístico Agropecuario 2020. Recuperado de <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-y-estadisticas/estadisticas/anuario-estadistico-agropecuario-2020>
- Dirección de Economía Agropecuaria [DIEA]. (2021). Anuario Estadístico Agropecuario 2021. Recuperado de <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/comunicacion/publicaciones/anuario-estadistico-agropecuario-2021>
- Dirksen, G., Dori, S., Arbel, A., Schwarz, M., y Liebich, H.G. (1997). The rumen mucosa – its importance as a metabolic organ of the high producing dairy cow. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 52, 73-79.
- Elizondo, V., Falero, A.L., y Pereira, A. (2007). *Digestibilidad y ambiente ruminal en ovinos alimentados con pastura fresca utilizando distintos suplementos energéticos* (Tesis de grado). Facultad de Veterinaria, UDELAR, Montevideo.
- Fischer, J.M., Buchanan-Smith J.G., Campbell, C., Grieve, D.G., y Allen, O.B. (1994). Effects of forage particle size and long hay for cows fed total mixed rations based on alfalfa and corn. *Dairy Science*, 77: 217-229.
- Forbes, J.M. (2007). *Voluntary food intake and diet selection in farm animals*. Londres: Cabi.
- Formoso, D. (2005). La investigación en utilización de pasturas naturales sobre cristalino desarrollada por el Secretariado Uruguayo de la Lana. En: Ayala, W., y Bermúdez, R. Seminario de actualización técnica en manejo de campo natural (pp. 41-50). Montevideo: INIA.
- Freer, M., y Dove, H. (2002). *Sheep Nutrition*. Canberra: CABI Publishing.

- Ganzábal, A. (1997). Alimentación de ovinos con pasturas sembradas (Serie Técnica; 84). Las Brujas: INIA.
- González, J. (1990). Alimentación de ovinos y caprinos. Madrid: Universidad politécnica Madrid.
- Goopy, J.P., Robinson, D.L., Woodgate, R.T., Donaldson, A.J., Oddy, V.H., Vercoe, P.E. y Hegarty, R.S. (2016). Estimates of repeatability and heritability of methane production in sheep using portable accumulation chambers. *Animal Production Science*, 56(1), 116– 122.
- Goopy, J.P., Woodgate, R., Donaldson, A., Robinson, D.L., y Hegarty, R.S. (2011). Validation of a short-term methane measurement using portable static chambers to estimate daily methane production in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 166–167, 219– 226.
- Hammond, K.J., Burke, J.L., Koolaard, J.P., Muetzel, S., Pinares-Patiño, C.S., y Waghorn, G.C. (2013). Effects of feed intake on enteric methane emissions from sheep fed fresh white clover (*Trifolium repens*) and perennial ryegrass (*Lolium perenne*) forages. *Animal Feed Science and Technology*, 179(1-4), 121-132.
- Hegarty, R.S., Alcock, D., Robinson, D.L., Goopy, J.P., y Vercoe, P.E. (2010). Nutritional and flock management options to reduce methane output and methane per unit product from sheep enterprises. *Animal Production Science*, 50(12), 1026–1033.
- Jaurena, M., Formoso, D., Miller, R., y Rebuffo, M. (2013). Campo natural: patrimonio del país y fundamento de la estabilidad productiva de la ganadería. *Revista INIA Uruguay*, 32, 30-35.
- Jaurena M., Mayans M., Punschke K., Reyno R., Millot J.C., y Labandera C. (2005). Diversidad simbiótica en leguminosas forrajeras nativas: aportes para el mejoramiento sustentable del campo natural. En R. Gómez y M. M. Albicette (Eds.). Seminario de actualización técnica en manejo de campo natural (Serie Técnica N° 151, pp. 9-14). Montevideo: Unidad de Agronegocios y Difusión del INIA.
- Johnson, K.A., y Johnson, D.E. (1995). Methane emissions from cattle. *Journal of animal science*, 73(8), 2483-2492.
- Kamande, G. (2006). Digestión ruminal y nutrición. En Producir XXI (Ed.), *Congreso de Forrajes* (Vol. XV, No. 180, pp. 52-57). Buenos Aires: Producir XXI.
- Kozloski, G.V., Cadorin Jr, R.L., Härter, C.J., Oliveira, L., Alves, T.P., Mesquita, F.R., y Castagnino, D.S. (2009). Effect of supplemental nitrogen source and feeding frequency on nutrient supply to lambs fed a kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*) hay-based diet. *Small Ruminant Research*, 81(2-3), 112-118.
- Leng, R.A. (1993). Quantitative ruminant nutrition—a green science. *Australian Journal of Agricultural Research*, 44(3), 363-380.
- McAllister, T.A., Cheng, K.J., Okine, E.K., y Mathison, G.W. (1996). Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, 76(2), 231-243.

- McDonald, P., Edwaeds, R., Greenhalgh, J., y Morgan, C. (1999). *Nutrición Animal* (5ª ed.). Zaragoza: Acribia.
- McDonald, P., Edwaeds, R., Greenhalgh, J., Morgan, C., Sinclair, L.A., y Wilkinson, R.G. (2013). *Nutrición Animal* (7a ed.). Zaragoza: Acribia.
- Methol, M. (2005). *Emisión de metano en sistemas pastoriles de producción ganadera*. Recuperado de <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/4922/1/METHOL-M.-2005.-Emision-de-metano.pdf>
- MGAP. (2016). Anuario estadístico agropecuario 2015 [En Línea]. Censo General Agropecuario, Montevideo: MGAP. Recuperado de: <http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/multimedia/censo2011>
- Ministerio de vivienda y ordenamiento territorial y Sistema Nacional de Respuesta al Cambio Climático territorial. (2019). BUR 3. Uruguay: Tercer Informe Bienal de Actualización a la Conferencia de las Partes en la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático. Recuperado de https://www4.unfccc.int/sites/SubmissionsStaging/NationalReports/Documents/514082697_Uruguay-BUR3-1-20191231%20URUGUAY%20BUR3%20ESP.pdf
- Moe, P.W., y Tyrrell, H.F. (1979). Methane production in Dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 62(10), 1583-1586
- Montossi, F., Pigurina, G., Santamarina, I., y Berretta, E. (2000). Selectividad animal y valor nutritivo de la dieta de ovinos y vacunos en sistemas ganaderos: teoría y práctica (Serie Técnica; 113). La Estanzuela: INIA.
- Muir, S.K., Behrendt, R., Moniruzzaman, M., Kearney, G., Knight, M.I., y Thomas, D. (2021). Automated feeding of sheep. 2. Feeding behaviour influences the methane emissions of sheep offered restricted diets. *Animal Production Science*, 62(1), 55-66.
- Nabinger, C., y Carvalho, P.C. (2009). Ecofisiología de sistemas pastoriles: aplicaciones para su sustentabilidad. *Agrociencia*, 13(3): 18-27.
- National Research Council. (2007). Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, goats, cervids, and new world camelids. Washington, DC: National Academy Press.
- Nolan, J.V., y Dobos, R.C. (2005). Nitrogen transaction in ruminants. En Dijkstra, J., Forbes, J.M., y France, J. (2005). *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism* (2º ed.). UK, CABI.
- Paganoni, B., Rose, G., Macleay, C., Jones, C., Brown, D.J., Kearney, G., ... Thompson, A. N. (2017). More feed efficient sheep produce less methane and carbon dioxide when eating high-quality pellets. *Journal of Animal Science*, 95, 3839–3850.
- Pereira, M. (2011). Manejo y conservación de las pasturas naturales del Basalto. Montevideo: Instituto Plan Agropecuario.
- Pérez-Ruchel, A. (2006). *pH, amoníaco, ácidos grasos volátiles y producción de proteína microbiana en el rumen de corderos, según el horario de corte de*

- pastura consumida* (Tesis de grado). Facultad de Veterinaria, UDELAR, Montevideo.
- Poppi, D.P., Hughes, T.P., y L´ Huillier, P.J. (1987). Intake of pasture for grazing animals. En A.M. Nicol (Ed.), *Livestock feeding on pasture* (pp. 55-64). Nueva Zelanda: New Zeland society of animal production.
- Pueyo, J.M., Pizzio, R., Fernández, J.G., y Ordenavi, R. (2013). Sistema de pastoreo mixto Bovinos – Ovinos. Paraná: INTA.
- Reece, O.W., Erickson, H.H., Goff, J.P., y Uemura, E.E. (2015). *Dukes' Physiology of Domestic Animals* (13ª ed.). Nueva Yersey: Wiley-Blackwell
- Robinson, D.L., Goopy, J.P., Hegarty, R.S., Oddy, V.H., Thompson, A.N., Toovey, A.F., ... Vercoe, P.E. (2014). Genetic and environmental variation in methane emissions of sheep at pasture. *Journal of Animal Science*, 92, 4349–4363.
- SAS® On Demand for Academics. (2019). Cary: SAS Institute Inc. Cary: SAS Institute Inc.
- Soca, P., Espasandín, A., y Carriquiry, M. (2013). *Efecto de la oferta de forraje y grupo genético de las vacas sobre la productividad y sostenibilidad de la cría vacuna en campo natural*. Montevideo: INIA. Unidad de comunicación y transferencia de tecnología
- Sutton, J.D. (1985). Digestion and Absorption of Energy Substrates in the Lactating Cow. *Journal of Dairy Science*, 68(12), 3376-3393.
- Tothill, J.C., Hargreaves, J.N.G., Jones, R.M., y McDonald, C. (1978). BOTANAL - a comprehensive sampling and computing procedure for estimating pasture yield and composition. *Tropical agronomy technical memorandum*, 78, 1-22.
- Ulyatt, M.J., y Lassey, K.R. (2001). Methane emissions from pastoral systems: the situation in New Zealand. *Producción Animal*, 9(1): 118-126.
- Van Soest P.J., Robertson J.B., y Lewis B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 10 (74): 3583–3597.
- Velazco, J.I. (2015). *Quantifying daily methane production of beef cattle from multiple short-term measures using the GreenFeed system*. (Tesis de Doctorado). University of New England, Armidale.
- Weatherburn, M.W. (1967). Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical chemistry*, 39(8), 971-974.
- Zereu, G. (2016). Factors affecting feed intake and its regulation mechanisms in ruminants a review. *International Journal of Livestock Research*, 6(04), 19-40.