



EFFECTO *IN VITRO* DE LA INCLUSIÓN DE ARBÓREAS FORRAJERAS DEL PIE DE MONTE AMAZÓNICO EN SUPLEMENTOS PARA BOVINOS

IN VITRO EFFECT OF TREES FORAGES INCLUSION FROM THE AMAZONIAN PIEDMONT IN SUPPLEMENTS FOR CATTLE

✉A.R. RIASCOS VALLEJOS^{1*}, ✉R. RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ², ✉LINA Y. QUINTERO¹, ✉DIANA P. VARGAS¹

¹Servicio Nacional de Aprendizaje - SENA. Regional Putumayo. Programa SENNOVA, Centro Agroforestal y Acuicola Arapaima. Puerto Asis, Putumayo, Colombia.

²Instituto de Ciencia Animal, C. Central, km 47 ½, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

*Email: ariascos@sena.edu.co

Se evaluaron los efectos *in vitro* de la inclusión de tres forrajeras nativas y adaptadas al pie de monte amazónico en suplementos para bovinos. Se conformaron siete tratamientos: T1) control (concentrado sin arbóreas), T2 y T3 (20 y 40 % de inclusión de *Trichantera gigantea*, respectivamente), T4 y T5 (20 y 40 % de inclusión de *Piptocoma discolor*, respectivamente) y T6 y T7 (20 y 40 % de inclusión de *Hibiscus rosa-sinensis*, respectivamente). Se aplicó la técnica *in vitro* de producción de gas y se determinó la degradabilidad *in vitro* de la materia seca y materia orgánica. Se utilizó diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones por tratamiento. La mayor producción de gas correspondió al control (T1), aunque no mostró diferencias con respecto al tratamiento con 40 % de *Piptocoma* (T5) ($p=0.016$). Los menores valores de producción acumulada de gas se obtuvieron al incluir 20 % de *Piptocoma* (T4), lo que no difirió de los tratamientos T2, T5, T6 y T7. Los mayores valores de degradabilidad *in vitro* de la materia seca correspondieron al control (T1) y los suplementos con 20 % de inclusión de *Trichantera* (T2) y 20 y 40 % de *Hibiscus* (T6 y T7) ($p<0.008$). El menor valor de degradabilidad fue para el T5. Las mayores cifras de digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica correspondieron al control y a los suplementos con 20 % de *Trichantera* (T2) y con *Hibiscus* (T6 y T7) ($p<0.0001$). El resto de los tratamientos tuvieron el siguiente comportamiento: $T4 > T3 > T5$. Se concluye que la inclusión en el concentrado de 20 % de *T. gigantea* y de 20 y 40 % de *H. rosa-sinensis* no afectó la degradabilidad de la MS y la MO del suplemento y mejoró la partición de nutrientes a mayor deposición de la materia fermentada como biomasa microbiana, al disminuir la producción de gas con respecto al concentrado sin arbóreas.

The *in vitro* effects of the inclusion of three native species and adapted to the Amazonian piedmont on supplements for cattle were evaluated. A total of seven treatments were constituted: T1) control (concentrate without trees), T2 and T3 (20 and 40 % of *Trichantera gigantea* inclusion, respectively), T4 and T5 (20 and 40 % of *Piptocoma discolor* inclusion, respectively), and T6 and T7 (20 and 40 % of *Hibiscus rosa-sinensis* inclusion, respectively). The *in vitro* technique of gas production was applied and the *in vitro* degradability of the dry matter and organic matter was determined. A completely randomized design with four repetitions per treatment was used. The higher gas production corresponded to the control (T1), although did not showed differences with respect to the treatment with 40 % *Piptocoma* (T5) ($p=0.016$). The lower values of accumulated gas production were obtained when including 20 % of *Piptocoma* (T4), which not differ of the treatments T2, T5, T6 and T7. The highest values of *in vitro* degradability of the dry matter corresponded to the control (T1) and the supplements with 20 % of *Trichantera* inclusion (T2) and 20 and 40 % of *hibiscus* (T6 and T7) ($p<0.008$). The lower degradability value was for T5. The highest figures of *in vitro* digestibility of organic matter corresponded to the control and to the supplement with 20 % of *Trichantera* (T2) and with *hibiscus* (T6 and T7) ($p<0.0001$). The rest of treatments had the following performance: $T4 > T3 > T5$. It is concluded that the inclusion in the concentrate of 20 % of *T. gigantea* and 20 and 40 % of *H. rosa-sinensis* did not affected the DM and OM degradability of the supplement and improved the nutrition partition to higher deposition of the fermented matter as microbial biomass, when decreasing the gas production with respect to the concentrate without trees.

Palabras clave: fermentación, ganadería, nutrición, Putumayo

Key words: fermentation, livestock, nutrition, Putumayo

Recibido: 12 de febrero de 2024

Aceptado: 20 de mayo de 2024

Conflicto de intereses: Los autores declaran que no existe conflicto de intereses entre ellos

Declaración de contribución de autoría CRediT: A.R. Riascos-Vallejos: **Conceptualización, Investigación, Curación de datos, Redacción documento original.** R. Rodríguez Hernández: **Conceptualización, Redacción documento original, Supervisión.** Lina Y. Quintero: **Investigación, Curación de datos.** Diana P. Vargas: **Curación de datos, Redacción documento original**



Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



Introducción

En Colombia, 45 % de la leche se produce en sistemas extensivos basados en pastos de gramíneas con gran contenido de fibra, bajo valor nutritivo y baja producción de biomasa (Blanco-Wells y Günther 2019 y Ribeiro da Silva et al. 2021). La utilización de concentrados en el trópico resulta prohibitiva para la mayoría de los productores, debido a sus altos precios. La incorporación de follajes de especies arbóreas a concentrados convencionales podría ser una opción más económica. Se conoce que el uso de estas forrajeras con fuentes de energía de fácil fermentación mejora los patrones de fermentación ruminal y aumenta la digestibilidad de la materia seca y la materia orgánica (Díaz Echevarría et al. 2023).

La técnica de producción de gas *in vitro* se usa ampliamente en la evaluación del valor nutritivo de nuevos alimentos, suplementos y aditivos, pues constituye un procedimiento menos laborioso y costoso, requiere menos tiempo con respecto a los estudios *in vivo* (Amanzougarene y Fondevila 2020) y se combina con mediciones de la degradabilidad de los residuos de la fermentación que tienen alta correlación con la degradabilidad *in vivo* (Baffa et al. 2023). Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos *in vitro* de la inclusión de tres forrajeras nativas y adaptadas al pie de monte amazónico en suplementos para bovinos.

Materiales y Métodos

Preparación de los tratamientos evaluados. Todos los forrajes se obtuvieron en áreas de la finca Villa Lucero, ubicada en las coordenadas 0°35'25.6"N 76°32'05.3"W, municipio de Puerto Asís, Corregimiento de Santana, Departamento del Putumayo, al suroccidente de la República de Colombia, a una altitud de 256 m s.n.m. Las condiciones climáticas se corresponden con la zona de bosque húmedo tropical, con temperatura promedio de 25.3 °C, humedad relativa de 85 % y una precipitación anual de 3 355 mm (Ruiz y Melo 2022).

Se recolectaron muestras de *Trichanthera gigantea* (Acanthaceae), *Piptocoma discolor* (Asteraceae) y *Hibiscus rosa-sinensis* (Malvaceae) de un banco forrajero establecido en la finca con plantas de un año, a las que se les realizó manejo agronómico de podas, control de insectos y arvenses. Se dio un corte de establecimiento y se recolectó el rebrote de las plantas a los 60 d por corte manual. El material cortado se secó en estufa de aire forzado a 60 °C hasta alcanzar peso constante. Posteriormente, el material seco se homogenizó y se molió con un molino de martillo con criba de 1.0 mm.

Se formularon siete suplementos, teniendo en cuenta las recomendaciones del NRC (2001). Cada tratamiento consistió en la inclusión de 20 o 40 % de forrajera en el

suplemento y un suplemento comercial como control. Se evaluaron los siguientes tratamientos:

1. Suplemento comercial [T1 Control]
2. Suplemento comercial con 20 % de inclusión de *T. gigantea* [T2]
3. Suplemento comercial con 40 % de inclusión de *T. gigantea* [T3]
4. Suplemento comercial con 20 % de inclusión de *P. discolor* [T4]
5. Suplemento comercial con 40 % de inclusión de *P. discolor* [T5]
6. Suplemento comercial con 20 % de inclusión de *H. rosa-sinensis* [T6]
7. Suplemento comercial con 40 % de inclusión de *H. rosa-sinensis* [T7]

Se prepararon 5 kg de cada tratamiento a evaluar. De cada uno se tomaron muestras para el análisis de laboratorio y los estudios *in vitro*. Los tratamientos se prepararon en el laboratorio de biotecnología del Centro Agroforestal y Acuícola Arapaima del SENA, Regional Putumayo.

Procedimiento experimental in vitro. Se utilizó la técnica de producción de gas *in vitro*, descrita por Theodorou et al. (1994). Se incubó 1.0 g de MS de cada tratamiento en botellas de vidrio color ámbar de 110 mL en medio de cultivo y un inóculo microbiano (en proporción 85:10). Se utilizó como inóculo el contenido ruminal de tres novillos mestizos de Holstein, obtenido durante el proceso de faenado en un centro de beneficio, según los estándares certificados de bienestar animal. Los animales se alimentaron con una dieta basada en pastos de gramíneas tropicales y tuvieron libre acceso al agua y a sales minerales. El contenido ruminal de cada animal se recolectó y se conservó en termos cerrados hasta llegar al laboratorio, donde se filtró y se mezclaron los inóculos en proporciones iguales.

Las botellas se sellaron y se incubaron en baño de agua a temperatura controlada (39 °C). Se tomó ese momento como la hora cero de la incubación. Se incubaron cuatro botellas por tratamiento y cuatro botellas sin sustrato como blanco.

La producción de gas se midió hasta las 72 h de incubación por medio de un transductor de presión (Autonic, modelo PSA-1) con lector digital. Al finalizar cada lectura, las botellas se agitaron manualmente. Cuando terminó la incubación, se abrieron y su contenido se filtró a través de bolsas de nailon (45µm de porosidad) taradas previamente en balanza analítica (OHAUS, ax224/e, ± 0.0001). Las bolsas con los residuos de la fermentación se secaron hasta alcanzar peso constante. Se utilizó una estufa de aire forzado con temperatura regulada a 60 °C durante 72 h.

Se determinó por gravimetría la degradabilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y la materia orgánica (DIVMO) de los suplementos evaluados, entendida como la diferencia de estos dos indicadores. Esto es: la diferencia entre el sustrato incubado y el residuo de la fermentación, expresado como proporción del sustrato incubado y multiplicado por 100 (%), respectivamente.

Análisis químico. Se determinó materia seca (MS), materia orgánica (MO), extracto etéreo (EE) y proteína bruta (PB), según AOAC (2016). La fibra detergente neutro (FDN) y detergente ácido (FDA) se obtuvieron mediante el procedimiento descrito por van Soest *et al.* (1991).

Análisis estadístico. Para determinar el efecto de la inclusión de las especies forrajeras en los tratamientos se utilizó un diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones, lo que correspondió a cada botella o bolsa por suplemento. Los resultados se analizaron por ANOVA mediante el paquete estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.* 2012). Cuando se encontraron diferencias ($P < 0.05$), las medias de los tratamientos se compararon por la dócima de rangos múltiple de Duncan (1955).

Resultados y Discusión

En la tabla 1 se muestra la composición química de los suplementos evaluados. Se formuló sobre la base de elaborar tratamientos isoenergéticos y con variación en PB, que no superaran 3 % entre los suplementos con menor y mayor contenido de proteínas. La relación proteína/EM se mantuvo entre 9.8 y 11.6 g MJkg MS⁻¹, aspecto a considerar porque un cambio en el aporte de proteínas puede influir en el rendimiento productivo del bovino, al modificarse el plano general de nutrición.

En la figura 1 se muestra la producción acumulada de gas *in vitro* a las 72 h de fermentación. La mayor producción correspondió al control (T1), aunque no mostró diferencias con respecto al tratamiento con 40 % de *Piptocoma* (T5) ($p=0.016$). Los menores valores de producción acumulada de gas se obtuvieron al incluir 20 % de *Piptocoma* (T4). Estos no difirieron del tratamiento con 40 % de esta planta (T5) ni de los suplementos con 20 % de *Trichantera* (T2) y con *Hibiscus* (T6 y T7).

Las DIVMS y DIVMO se presentan en las figuras 2 y 3, respectivamente. Los mayores valores de DIVMS

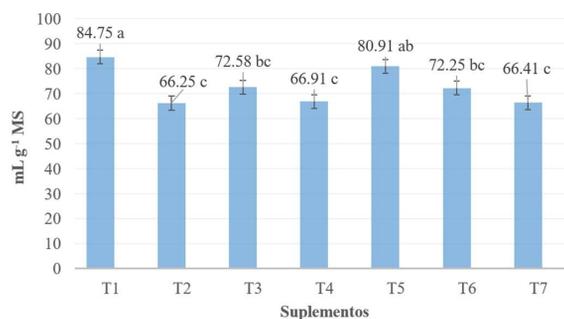


Figura 1. Efecto del suplemento en la producción de gas acumulada *in vitro* a las 72 h de incubación (EE=±3.71 y $p=0.0158$)

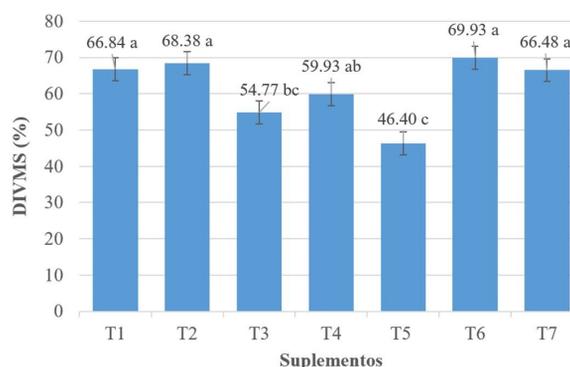


Figura 2. Efecto del suplemento en la DIVMS a las 72 h de incubación (EE=±3.18 y $p=0.0076$)

correspondieron al control (T1) y los suplementos con 20 % de inclusión de *Trichantera* (T2) y 20 y 40 % de *Hibiscus* (T6 y T7) ($p < 0.008$). El menor valor de degradabilidad se observó al incluir 40 % de *Piptocoma* (T5). El suplemento con 40 % de *Trichantera* no mostró diferencias respecto a los suplementos con *Piptocoma* (T4 y T5).

En cuanto a la DIVMO, las mayores degradabilidades se registraron para el control y los suplementos con 20 % de *Trichantera* (T2) y con *Hibiscus* (T6 y T7) ($p < 0.0001$). El resto de los tratamientos tuvieron el comportamiento siguiente: T4 > T3 > T5.

Tabla 1. Composición química de los suplementos evaluados

Tratamientos	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
MS, %	88.70	89.08	90.22	89.81	91.57	88.88	90.66
MO, %	96.87	96.30	94.04	96.20	95.00	97.14	95.82
Extracto etéreo, %	4.96	6.44	9.32	6.98	7.98	2.72	5.65
Proteína bruta, %	11.53	11.50	12.49	11.78	13.95	11.50	11.54
FDN	49.03	50.56	52.57	45.83	52.12	53.99	53.98
FDA	28.32	26.81	28.06	28.27	29.27	28.90	31.76
EM (MJkg ⁻¹ MS)	11.79	11.50	11.50	11.76	11.98	11.51	11.83
Relación PB/EM (g MJkg ⁻¹ MS)	9.80	10.00	10.90	10.00	11.60	10.00	9.80

A menudo, la manipulación de la composición de los nutrientes de la dieta se propone como estrategia para mejorar la alimentación a costos más competitivos y la fermentación ruminal, así como para incrementar la eficiencia energética o reducir la producción de metano (Baffa et al. 2023). Según la caracterización de arbustos en el pie de monte amazónico, las especies *P. discolor*, *T. gigantea* e *H. rosa-sinensis* presentan contenido adecuado de proteínas, energía y degradabilidad (Riascos et al. 2020). Por ello, su inclusión en los suplementos podría abaratar costos, sin afectar la calidad de aquellos e incluso, aportar contenidos moderados de metabolitos secundarios que mejorasen la fermentación ruminal e incrementasen la partición de los nutrientes degradados hacia mayor síntesis microbiana y menor producción de gas por unidad de materia orgánica fermentada.

Al analizar de manera conjunta los tres indicadores medidos, el control (T1) siempre mostró los mayores valores de producción de gas, DIVMS y DIVMO, como se debía esperar al incluir en el resto de los suplementos una fuente fibrosa (20 y 40 %). Los suplementos con 20 % de *Trichantera* (T2) y 40 % de *Hibiscus* (T7) mostraron altas degradabilidades de MS y MO, pero bajas producciones de gas respecto al control. Un comportamiento similar tuvo el tratamiento con 20 % de inclusión de *Hibiscus* (T6), por lo que estos y los anteriores se deben considerar para futuros estudios en condiciones *in vivo*.

Al tener estos suplementos similares degradabilidades con respecto al control, el comportamiento de la producción de gas indicó que estos dos tratamientos promovieron mayor síntesis de biomasa microbiana, lo que es algo deseable al utilizar este tipo de alimento. Makkar (2000) planteó que los alimentos se deben seleccionar por tener degradabilidad elevada verdadera y baja producción de gas por unidad de sustrato degradado.

Por el contrario, el suplemento con 20 % de *Piptocoma* mostró valores menores de DIVMS, DIVMO y producción de gas. Este comportamiento indica que ese nivel de inclusión del forraje tropical afectó el valor nutritivo de ese tratamiento, por lo que se descartó como opción alimentaria. Lo mismo sucedió con el tratamiento con 40 % de inclusión de esta planta. Este comportamiento se puede deber, probablemente, a la presencia de metabolitos secundarios que afectan la fermentación ruminal. Se sabe que esta especie tiene metabolitos secundarios que pueden afectar la fermentación ruminal, como polifenoles, alcaloides y, en menor medida, saponinas (Riascos et al. 2020). Asimismo, la inclusión de *P. discolor* en activadores ruminales en forma de granulado dejó ver que los bloques con mayores niveles de esta arbórea tuvieron menor DIVMS (Riascos et al. 2024).

Las especies forrajeras tropicales muestran variaciones en su contenido de nutrientes y metabolitos secundarios según

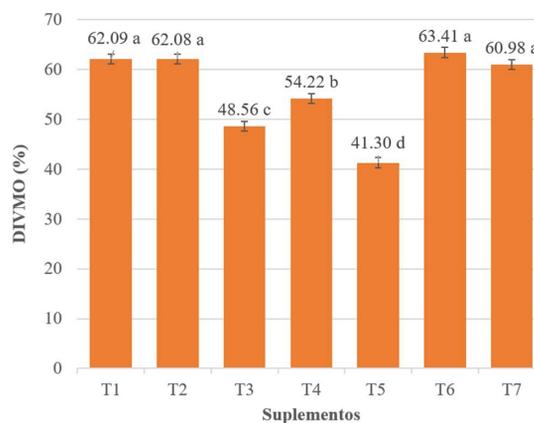


Figura 3. Efecto del suplemento en la DIVMO a las 72 h de incubación (EE= ±1.02 y p<0.0001)

su estado fenológico, edad o exposición a estrés bióticos y abióticos. Estos cambios influyen en la dinámica de fermentación y la digestibilidad de los nutrientes (Pérez-Can et al. 2020). Futuros estudios deben profundizar en estos aspectos, de manera que se puedan obtener suplementos que, además de aportar nutrientes con menores costos de producción, mejoren la fermentación ruminal del pasto base.

Se ha comprobado que la suplementación con follajes proteicos con una fuente de energía de rápida disponibilidad hace más eficiente el metabolismo del nitrógeno en el rumen (Arjona-Alcocer et al. 2020). Luna (2021) informa en condiciones *in vitro* mejora en la disponibilidad de nitrógeno y en el aporte energético en dietas con *T. diversifolia*, debido a mayor solubilidad de la proteína y al aumento en la concentración de carbohidratos no estructurales en la dieta. En el presente estudio, los suplementos mostraron alto contenido de energía y valores de PB que sobrepasaron 11.5 %, lo que garantizó una disponibilidad de proteínas por unidad de energía superior a los 9.8 g, aunque habría que evaluar en el futuro el efecto de la inclusión de las arbóreas en la solubilidad de esas proteínas en el rumen y su disponibilidad a nivel intestinal.

Además, la inclusión al 20 y 40 % de las arbóreas en los suplementos no provocó concentraciones de taninos que superaran los 50 g kg⁻¹ MS, nivel que se considera inferior al que debe corresponder a estos metabolitos para que tengan efectos beneficiosos, y por encima del cual afectan el crecimiento de los microorganismos en el rumen, el metabolismo ruminal y la digestibilidad de la dieta (Díaz Echevarría et al. 2023). No obstante, en el caso de *Piptocoma*, estos metabolitos pudieron ser la causa de los efectos registrados en la degradabilidad de los suplementos. Esto se podría deber a la reactividad particular de estos compuestos fenólicos que, a pesar de sus contenidos moderados, pueden tener un efecto mayor que otros taninos a iguales concentraciones.

Conclusiones

La inclusión en el concentrado de 20 % de *T. gigantea* y 20 y 40 % de *H. rosa-sinensis* no afectó la degradabilidad de la MS y la MO del suplemento y mejoró la partición de nutrientes en cuanto a mayor deposición de la materia fermentada como biomasa microbiana, al disminuir la producción de gas con respecto al concentrado sin arbóreas.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo ofrecido por el Servicio Nacional de Aprendizaje SENA y el laboratorio de biotecnología, proyecto SENNOVA, regional Putumayo, Colombia.

Referencias

- Amanzougarene, Z. & Fondevila, M. 2020. Fitting of the *in vitro* gas production technique to the study of high concentrate diets. *Animals*, 10: 1935, ISSN: 2076-2615. <http://dx.doi.org/10.3390/ani10101935>
- AOAC. Official methods of analysis of AOAC. 2016. International. 20. ed., Rockville MD: AOAC International, Latimer, George W. Jr. ISBN: 9780935584875. <http://www.directtextbook.com/isbn/9780935584875>. [Consulted: Octubre 15, 2023]
- Arjona-Alcocer V.A., Aguilar-Pérez C.F., Ku-Vera J.C., Ramírez-Avilés, L. & Solorio-Sánchez, F.J. 2020. Influence of energy supplementation on dietary nitrogen utilization and milk production in cows fed foliage of *Leucaena leucocephala*. *Tropical Animal Health and Production*, 52(5): 2319–2325, ISSN: 1573-7438. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02254-1>
- Baffa, D.F., Oliveira, T.S., Fernandes, A.M., Camilo, M.G., Silva, I.N., Meirelles Júnior, J.R. & Aniceto, E.S. 2023. Evaluation of associative effects of *in vitro* gas production and fermentation profile caused by variation in ruminant diet constituents. *Methane*, 2: 344–360, ISSN: 2674-0389. <https://doi.org/10.3390/methane2030023>
- Blanco-Wells, G. & Günther, M.G. 2019. On crises, ecologies, and transitions: Reflections on latinamerican social theory regarding global environmental change. *Revista Colombiana de Sociología*, 42(1): 19–40, ISSN: 0120-159X. <https://doi.org/10.15446/rcs.v42n1.73190>
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M. & Robledo, C.W. 2012. InfoStat, versión 2012. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>
- Díaz Echeverría, V.F., Sánchez Ramos, A., Albores-Moreno, S., Lara Pérez, L.A., Valencia-Salazar, S.S., Ku-Vera, J.C. & Alayon-Gamboa, J.A. 2023. Valoración nutricional y fermentación *in vitro* de mezclas de follaje de árboles con harina de yuca en dietas para borregos. *Acta Universitaria*, 33: e3558, ISSN: 2007-962. <http://doi.org/10.15174.au.2023.3558>
- Duncan, D. B. 1955. Multiple Range and Multiple F Tests. *Biometrics*, 11(1): 1–42, ISSN: 0006-341X. <http://doi.org/10.2307/3001478>
- Luna, M.A.A. 2021. Digestibilidad *in vitro* de dietas para ovinos de engorda suplementadas con follaje de *Tithonia diversifolia*. Tesis de Maestría. Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Tizimín, 76 pp
- Makkar, H.P.S. 2000. Applications of the *in vitro* gas method in the evaluation of feed resources, and enhancement of nutritional value of tannin-rich tree/browse leaves and agro-industrial by-products. Proceeding Meeting IAEA Technical Cooperation Regional AFRA Project. Cairo, Egypt, pp. 23-40.
- National Research Council (NRC). 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington DC.
- Pérez-Can, G.E., Tzec-Gamboa, M., Albores-Moreno, S., Sanginés-García, J., Aguilar-Urquiza, E., Chay-Canul, A., Canul-Solis, J., Muñoz-Gonzalez, J., Díaz-Echeverría, V. & Piñeiro-Vázquez, A.T. 2020. Degradabilidad y producción de metano *in vitro* del follaje de árboles y arbustos con potencial en la nutrición de rumiantes. *Acta Universitaria*, 30: e2840, 1-13, ISSN: 2007-9621. <https://doi.org/10.15174/au.2020.2840>
- Riascos-Vallejos, A.R., Reyes, J.J. & Aguirre, L.A. 2020. Nutritional characterization of trees from the Amazonian piedmont, Putumayo department, Colombia. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 54(2): 257-265, ISSN: 2079-3480
- Riascos-Vallejos, A.R., Vargas-Muñoz, D.P., Narvaez-Herrera, J.P. & Quintero-Quintero, L.Y. 2024. Pellets de melaza como activadores ruminales en bovinos en la llanura amazónica del departamento del Putumayo. *Livestock Research for Rural Development*, 36: Article #7, ISSN: 0121-3784. <http://www.lrrd.org/lrrd36/1/3607jupa.html>
- Ribeiro da Silva, T., Granja Salcedo, Y.T., Alvarado Vesga, D. & Duarte Messana, J. 2021. Fuentes Proteicas De Baja Degradación Ruminal Y Su Efecto En La Producción De Metano En Bovinos De Carne. *Revista Facultad de Ciencias Agropecuarias -FAGROPEC*, 12(2): 232–240, ISSN: 2539-178X. <https://doi.org/10.47847/fagropec.v12n2a5>
- Ruiz, J.F. & Melo, J.Y. 2022. Informe de Predicción Climática a corto, mediano y largo plazo en Colombia. Grupo de Modelamiento de Tiempo y Clima, Subdirección de Meteorología – IDEAM, 10 pp. http://www.ideam.gov.co/documents/21021/120966722/01_Predicci%C3%B3n_Clim%C3%A1tica_Feb_Mar_Abr/7c6e8635-2575-4ea0-b7b0-2bc54256b680?version=1.0 [Consulted: September 25, 2023]

Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. & France, J. 1994. Simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48: 185-197, ISSN: 0377-8401. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90171-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6)

Van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10): 3583-3597, ISSN: 1525-3198. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)