

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Nitrogen balance in grass and grass plus *Lotus uliginosus* pastures in the west region of the Bogotá savanna, Colombia

Edwin Castro R.¹, José E. Mojica R.², Javier León³,
Martha Pabón⁴, Juan Carulla⁵, Edgar Cárdenas⁶

ABSTRACT

This study determined the nitrogen balance in two types of template pastures: a mixed pasture of two grass kikuyu (*Pennisetum clandestinum*) and tall fescue (*Festuca arundinacea*) pasture and the associated tall fescue grass and legume bird foot trefoil (*Lotus uliginosus*), in an area of 1 ha, with a completely randomized design with cow as the experimental unit and pasture treatment. Five Holstein cows were used for each treatment for an experimental period of 14 days. Was determined the biomass production (g MS/m²), nitrogen amount in the pasture, supplement outlets in feces, urine and milk, and the value of efficiency of nitrogen use by animals. In animal balance was best efficiency in nitrogen use in the associated pasture in front of the mixed pasture, and changes in the excretion routes, with a greater output of nitrogen in the urine of mixed pasture fed and in more milk in the associate pasture fed. In situ nitrogen balance in the pasture was conducted, using a simulation model, which used the values determined in this trial and showed that the N balance was positive for the associated pasture in front of the mixed pasture, which indicates less need for external nitrogen in the pasture associated. Associated pasture grass legume most improved the efficiency of nitrogen use in cattle for milk and presented a positive balance in the pasture.

Keywords: Tall fescue, kikuyu, legume, dairy cattle.

Balance de nitrógeno en pastura de gramíneas y pastura de gramínea más *Lotus uliginosus* en la sabana de Bogotá, Colombia

RESUMEN

En esta investigación se determinó el balance de nitrógeno en dos tipos de pasturas de clima frío: una pastura mixta de dos gramíneas -kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y festuca alta (*Festuca arundinacea*)- y pastura asociada de la gramínea festuca alta más la leguminosa trébol pata de pájaro (*Lotus uliginosus*), en un área de 1 ha cada una, con un diseño al azar con la vaca como unidad experimental y la pastura como tratamiento. Se emplearon cinco vacas Holstein para cada tratamiento durante un período experimental de 14 días. Se determinó la producción de biomasa (g MS/m²), cantidad de nitrógeno en la pastura, suplemento, salidas en heces, orina y leche, y el valor de eficiencia de uso del nitrógeno por los animales. En el balance del nitrógeno en el animal, se observó mejor eficiencia en su uso en la pastura asociada comparada con la pastura mixta, y cambios en las vías de excreción, siendo mayor la salida en orina de los alimentados con pastura mixta y mayor en leche en los alimentados con la asociada. El balance de nitrógeno en la pastura in situ se realizó con un modelo de simulación, empleando los valores determinados en este ensayo, y se observó que fue positivo para la pastura asociada frente a la mixta; esto indica menor necesidad de nitrógeno externo en la pastura asociada. La pastura asociada mejoró la eficiencia de uso del nitrógeno en ganado para leche y presentó un balance positivo en el sistema de pastura.

Palabras clave: festuca, kikuyo, leguminosa, ganado de leche.

INTRODUCCIÓN

LA SABANA DE BOGOTÁ y los valles de Ubaté y Chiquinquirá se ubican dentro de la zona agroecológica de trópico alto andino colombiano, cuyas características microclimáticas particulares favorecen la producción especializada de leche. Esta producción dedica 300.000 hectáreas a áreas de pastos, conformadas en 80% por kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y en menor proporción por raigrás (*Lolium sp.*), avena (*Avena sativa*), azul orchoro (*Dactylis glomerata*), falsa poa (*Holcus lanatus*), tréboles (*Trifolium spp.*) y alfalfa (*Medicago sativa*) (Barreto, 1999).

El pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) es la fuente más barata de alimentación y más extendida en el tró-

Radicado: 2 de marzo de 2009
Aprobado: 20 de mayo de 2009

¹ Z. M.Sc. Investigador máster asistente, EE Motilonia, Corpoica, Codazzi, Cesar. ecastro@corpoica.org.

² MVZ. M.Sc. Investigador máster asistente, EE Motilonia, Corpoica, Codazzi, Cesar. jmojica@corpoica.org.co

³ Z. Universidad Nacional, Bogotá. jmleonc@unal.edu.co

⁴ Q. Ph.D. Docente Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. mlpabon@unal.edu.co

⁵ Z. Ph.D. Docente Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. jecarullaf@uanl.edu.co

⁶ Z. M.Sc. Docente Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. eacardenasr@unal.edu.co

pico alto andino colombiano. Está adaptado a altitudes que varían entre 1.700 y 2.800 msnm; con excelentes rendimientos en forraje de buena calidad, poca exigencia de agua y fertilizantes (Loter, 1993). Sin embargo, su persistencia y alta producción de biomasa se ve limitada durante el año, debido a la susceptibilidad a las heladas y a plagas como el chinche de los pastos (*Collaria scenica*). El género *Lolium* spp., también es susceptible a *C. scenica* y plagas como la roya (*Puccinia* spp.), pero no se ve afectado ostensiblemente su rendimiento de biomasa aérea mientras se dé un buen manejo de riego y fertilización. Los forrajes nativos se caracterizan por su baja producción de forraje y calidad y también se ven afectados por las épocas secas y heladas (Cárdenas, 2000).

Recientemente se han caracterizado nuevos forrajes como alternativa para los sistemas de producción lechera de clima frío en Colombia, buscando establecer un manejo óptimo de la fertilización y disminuir el uso de insumos agrícolas de acuerdo con las necesidades de la pradera, haciendo énfasis en el uso de asociación gramínea-leguminosa, lo cual trae efectos benéficos en la conservación y productividad de las praderas y disminuye la aplicación de fertilizantes nitrogenados (Cárdenas, 2003; Castro, 2004).

El uso de fertilizantes nitrogenados se toma como referencia del impacto ambiental que puede determinar el tipo de pastura o sistema de manejo utilizado, debido a que se asocia el uso de dichos fertilizantes con la eutrofización de acuíferos superficiales (JICA, 2000; Cárdenas, 2003), lo cual sería lesivo si se tiene en cuenta que Colombia es un país reconocido por la abundancia de sus recursos hídricos y por ende la gran diversidad biológica que alberga (IDEAM, 1998).

El impacto ambiental generado por los fertilizantes nitrogenados ya ha sido documentado hace algún tiempo, por volatilización de compuestos derivados de la fertilización o por lixiviación de alguno de sus componentes (Whitehead, 1995; JICA, 2000; Cárdenas, 2003; Murgueitio, 2003). Debido a que no todo el nitrógeno (N) que se aplica es utilizado por las plantas, gran parte de este elemento se pierde por lixiviación e ingresa en forma de nitrato a los ríos y aguas subterráneas ocasionando problemas a largo plazo de contaminación e impacto sobre salud pública o por volatilización en forma de óxido nitroso aumentando el efecto invernadero de la atmósfera (Whitehead, 1995; Kohn *et al.*, 1997; Meyer, 2000). De otro lado, los actuales precios internacionales del petróleo han incrementado los precios de la urea haciendo insostenible este sistema productivo. Aunque en realidad no se han realizado cuantificaciones efectivas de este impacto, lo que ha sido limitante para asumir el reto de iniciar los procesos de reconversión ambiental y social que requiere la ganadería de leche en Colombia (Murgueitio, 2003).

Dados estos antecedentes, se decidió determinar el balance de nitrógeno en el animal como valor de eficiencia en producción de nitrógeno en leche y el balance de nitrógeno en el sistema de pastura, adaptando el modelo de Thomas y colaboradores (1992) recomendado para el trópico bajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del experimento

El ensayo se realizó en el Centro Agropecuario Marengo (CAM), localizado en la vereda San José, municipio de Mosquera, Cundinamarca, localizado a 4° 42' de latitud norte y 74° 12' de longitud oeste; a 2.540 msnm de altitud; con temperatura promedio de 13°C que fluctúa entre 0°C y 20°C; precipitación anual promedio de 680 mm con distribución bimodal, con periodos lluviosos entre los meses de abril y mayo y otro desde septiembre hasta noviembre, con presencia de heladas durante los meses secos. La zona presenta una humedad relativa entre 80% y 85% (González *et al.*, 1997). Los suelos pertenecen a la serie Tibaitatá, los cuales se han formado a partir de materiales heterogéneos con influencia variable de cenizas volcánicas. Presentan baja evolución, son generalmente profundos, bien drenados y de fertilidad moderada.

Preparación del terreno

El área del experimento se preparó con un mes de anticipación a la siembra, mediante un pase de cincel a 50 cm de profundidad y dos pases de rastra.

Área del experimento

El área total del experimento fue de 20.000 m², con 2 parcelas de 10.000 m², donde se sembraron por medio de material vegetativo gramíneas en surco alternadas a 30 cm entre plantas y a 30 cm entre surcos; para el caso de la pradera asociada se empleó esta misma densidad pero alternando un surco de gramínea con uno de leguminosa.

Nivel de fertilización

Se empleó una fertilización recomendada para el establecimiento de las pasturas mixtas de gramíneas en clima frío según Silva (1996) y Bernal (1984).

Fertilización de pastura mixta (mezcla de gramíneas)

Quince días antes de la siembra se aplicaron 300 kg de cal dolomita; al momento de la siembra 30 kg fósforo, 25 potasio, 12 kg magnesio, 30 de boro y 12 kg azufre; a los 15 y 30 días después de la siembra, 50 kg nitróge-

no, todos estos valores por hectárea. Para el mantenimiento se realizó una aplicación de N después de cada pastoreo. No se consideró la necesidad de usar riego, puesto que se sembró en época de lluvias, además, los materiales evaluados fueron seleccionados por ser poco exigentes en agua.

Fertilización para la asociación de gramínea-leguminosa

Se aplicaron las mismas cantidades de fertilizantes, omitiendo la aplicación de nitrógeno, para aprovechar el papel de la leguminosa en el sistema de pastura.

Tratamientos

Se emplearon dos tipos de pasturas: mixta (*Pennisetum clandestinum* y *Festuca arundinacea*) y asociada (*Festuca arundinacea* + *Lotus uliginosus*).

Composición nutricional de las pasturas y del suplemento

Se empleó un suplemento elaborado a base de maíz molido, torta de soya y salvado de trigo, caracterizado por ser su bajo contenido de grasa; se incluyó óxido de cromo (Cr_2O_3) como marcador externo al 0,6% para garantizar una concentración adecuada que llevara a niveles detectables del marcador en las heces con el fin de determinar el consumo de forraje. El suplemento contenía 18% de proteína cruda (PC) y 1,85 Mcal energía neta de lactancia (EN_L), suministrado a razón de 1 kg por cada 4,2 litros de leche sobre la base forrajera, que correspondía a los dos tipos de pasturas del ensayo: mixta y asociada de gramínea-leguminosa (tablas 1 y 2).

Variables medidas en el animal

Fueron tomadas durante el período experimental de 14 días; los 7 primeros días fueron de acostumbramiento al suplemento y a la pastura y los 7 días restantes se tomaron los datos de los tratamientos. Se estimaron valores de eficiencia en el uso del nitrógeno en función de la

Tabla 1. Composición del suplemento alimenticio empleado en el experimento

Materias primas	Proporción (%)
Maíz molido	40,1
Torta de soya	17,4
Salvado de trigo	32,2
Palmiste expeller	1,8
Harina de pescado	1,0
Melaza	5,0
Premezcla minerales	0,1
Carbonato de calcio	1,8
Óxido de cromo	0,6

digestibilidad, metabolicidad y productividad. De este modo las variables que se estudiaron fueron relacionadas con entradas y salidas de nitrógeno, con base en el estudio de Betancur y Trujillo (2003) en vacas Holstein en Antioquia.

Animales empleados

Por cada tratamiento se emplearon cinco animales de peso promedio de 580 kg, entre 2 y 4 partos, en segundo tercio de lactancia (100 – 200 días posparto), con producciones similares de leche (20,3 L/día). Esto garantizó la homogeneidad de los animales.

Consumo de alimento

Se estimó el consumo voluntario de forraje por medio de marcadores externos e internos. Como marcador externo se empleó el óxido de cromo (Cr_2O_3) dentro de la formulación del suplemento a razón de 6 g/kg. Se tomaron muestras de heces por vía rectal en cada animal en las horas de la mañana desde el día 7 hasta el día 14 del período experimental, las cuales fueron congeladas a 4°C y posteriormente secadas en horno con aire forzado a 60°C, durante 48 horas y molidas en un tamiz de 0,5 mm. El cromo en las muestras de heces fue analizado por espectrometría de absorción atómica (Holden *et al.*,

Tabla 2. Composición nutricional de las pasturas y el suplemento alimenticio

Composición	<i>P. clandestinum</i>	<i>F. arundinacea</i>	<i>L. uliginosus</i>	Suplemento
Proteína cruda %	16,1	18,2	28,2	18,0
Fibra detergente neutro %	59,1	58,4	38,7	22,8
Fibra detergente ácido %	28,9	34,2	23,9	6,7
Extracto etéreo %	-	-	-	3,9
Digestibilidad in vitro de materia seca	65,7	66,2	68,9	86,2
EN_L (Mcal kg/MS) ^{1/}				1,85

1/ EN_L (Mcal kg/MS): estimación de energía neta de lactancia = 0,024 x (TDN%). National Research Council, Dairy Cattle, 2001.

1994). Se estimó la producción de heces (PH) por animal/día empleando la siguiente fórmula:

$$\text{PH (gMS/día)} = \frac{\text{Cantidad marcador consumido (g/día)}}{\text{Concentración de marcador en las heces (g/gMS)}}$$

Se analizó la fibra detergente ácida indigerible (Waller *et al.*, 1980), la cual se utilizó como marcador interno en el suplemento y las heces para estimar la digestibilidad (Dig) de la dieta, empleando la siguiente fórmula:

$$\text{Dig (\%)} = \frac{\text{Concentración marcador en el alimento (\%)}}{\text{Concentración marcador en heces (\%)}}$$

Finalmente, el consumo voluntario para cada animal se estimó empleando la siguiente fórmula:

$$\text{Coeficiente Indigestibilidad (ID)} = 1 - \text{Dig}$$

$$\text{Consumo (kgMS/día)} = \frac{\text{Producción de heces}}{\text{Coeficiente de digestibilidad}}$$

Variables medidas en la pastura

Balance de nitrógeno en cada pastura: se comparó el ciclaje del N in situ en las pasturas a evaluar *versus* el modelo de simulación recomendado por Thomas y colaboradores (1992). También se establecieron correlaciones entre las variables relacionadas con la excreción de nitrógeno en cada pastura.

Mediciones realizadas para el balance in situ

- Producción de biomasa y concentración de N en las pasturas a evaluar con el método Kjeldahl (AOAC, 1984).
- Concentración de N en la dieta de los animales, método Kjeldahl (AOAC, 1984).
- Producción leche y concentración de N en la misma a través de las pasturas a evaluar, método Kjeldahl (AOAC, 1984).
- Concentración de N en orina, para lo cual se empleó la creatinina como indicador del volumen producido (Valadares *et al.*, 1999). Se tomaron muestras de orina por estimulación vulvar, se acidificaron con HCl para mantener el pH por debajo de 2,0 y se almacenaron a -20°C para posterior análisis (Bargo *et al.*, 2002). La determinación de creatinina se realizó por medio del kit comercial Sigma kit 555-A (Sigma Chemical Co.).
- Excreción de N en heces, calculado a partir de la cantidad de heces determinada con óxido de cromo (Holden *et al.*, 1994).

Mediciones y supuestos del modelo descrito por Thomas y colaboradores

- La cantidad de biomasa es el punto de partida, ya que expresa la producción de la pastura. El porcentaje de N de la pastura expresa la cantidad de nitrógeno producido por unidad de área, ya sea en kg N o ton N/ha.
- Los animales retienen solamente 10% del nitrógeno ingerido, el resto lo excretan en heces u orina; cuando se usa en clima frío se adapta pues los animales retienen entre 20% y 25%.
- La ganancia de peso vivo contiene entre 2% y 2,5% de N; en el caso de producción de leche de animales adultos se adapta, pues depositan entre 2,8% – 3,2% de N en la leche (Whitehead, 1995).
- De la excreción de N, solamente 30% es retomado por las plantas, el resto se pierde por volatilización y lixiviación.
- Máximo 40% del N de la hojarasca es retomado por las plantas.
- El 50% del nitrógeno del forraje es reciclado internamente, es decir, removilizado de hojas viejas a tejidos nuevos en formación.
- Con excepción de las excretas, las pérdidas de N son pequeñas; cuando no se aplica nitrógeno están balanceadas por las entradas de la atmósfera (Thomas *et al.*, 1992).
- Las leguminosas fijan cerca de 90% de sus requerimientos.

Análisis estadístico

Para las variables producción de biomasa y contenido de nitrógeno de las pasturas se determinó únicamente en cada pastura sin comparación estadística, porque no hubo réplica para tal caso. Para las variables relacionadas con el balance de nitrógeno en el animal se empleó un modelo de completamente al azar. Donde se tuvo como unidad experimental cada vaca y como tratamiento la pastura, tomando como covariables para cada caso las mediciones del día 0. Se empleó el PROC MIXED del paquete estadístico SAS y la prueba de comparación de medias de Duncan (SAS, 1996).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_j + \beta (x_{ij} - X) + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

- μ : media general
- τ_j : efecto de los tratamientos
- $\beta (X_{ij} - X)$: ajuste de la covariable
- ε_{ij} : error experimental

RESULTADOS

Balance y eficiencia del nitrógeno en el animal

Se determinó el contenido de materia seca y de nitrógeno de cada uno de los suplementos, así como del forraje para

valorar el nitrógeno ingerido total. Este valor se obtuvo de la medición de la cantidad de suplemento y del forraje consumido. Se estimó la producción de materia seca y el nitrógeno digeridos, y se registraron las cantidades de leche, heces y orina que las vacas produjeron y las cantidades de nitrógeno relacionadas.

Variables relacionadas con el consumo de alimento y entradas de nitrógeno en el animal

En cuanto al consumo de alimento (tabla 3) se observaron diferencias ($p < 0,05$) en las dos pasturas. El consumo fue mayor en la pastura mixta de gramíneas frente a la asociada, tanto en el consumo con base en el peso vivo (3,62% y 4,57% respectivamente) como en kg MS/vaca de forraje y total ingerido. En el caso del nitrógeno total ingerido por los animales en cada pastura no hubo diferencias ($p > 0,05$).

Variables relacionadas con excreción de heces y digestibilidad

En cuanto a la producción de heces (tabla 4) (PHEC), no hubo diferencias para los dos grupos ($p > 0,05$), contrario

a lo sucedido con el contenido de nitrógeno (NH) en las heces de cada grupo de vacas, donde fue mayor en las heces de las vacas que estaban en la pastura asociada (2,62%), frente a las de la pastura mixta (2,37%), determinando así diferencias para la cantidad de nitrógeno excretado en las heces ($p < 0,05$) con 216,68 g/v/d en la pastura asociada frente a 183,98 g/v/d en la pastura mixta probablemente asociado con la presencia de taninos de la leguminosa en la dieta (Bermingham *et al.*, 2001; Molan *et al.*, 2001; Rogosic *et al.*, 2008). Para el caso del nitrógeno absorbido (NAP), la digestibilidad aparente (DAN) y la relación de nitrógeno en heces del ingerido total (NH/NTI) no se presentaron diferencias en los animales de cada pastura ($p > 0,05$), aunque se observó mayor digestibilidad aparente en la pastura mixta de gramíneas.

Variables relacionadas con la producción de orina y metabolismo del nitrógeno

Para el caso de la producción de orina (POR) (tabla 5), no se presentaron diferencias ($p > 0,05$) entre los dos grupos de animales en cada pastura, contrario al contenido de nitrógeno en la orina (NO) que fue mayor ($p < 0,05$) en los animales de la pastura mixta con 0,75%, frente a los

Tabla 3. Consumo de alimento y entradas de nitrógeno en una pastura asociada gramínea leguminosa y una mixta de gramíneas

Variables ^{1/}	Pastura asociada		Pastura mixta		Significancia ^{2/}
	Promedio	DE	Promedio	DE	
CMSF kg/vaca/día	15,74 b	1,06	19,66 a	1,82	**
NIF g/vaca/día	495,43	0,03	509,34	0,04	NS
CMSS kg/vaca/día	5,70	1,03	5,70	0,67	NS
NIS g/vaca/día	167,04	0,02	164,16	0,01	NS
CMST kg/vaca/día	21,44 b	1,14	25,36 a	1,99	**
CMS % PV	3,62 b	0,36	4,57 a	0,58	*
NIT g/vaca/día	662,47	0,04	673,50	0,05	NS

1/: CMSF: consumo de forraje en Kg MS/día. NIF: nitrógeno ingerido del forraje en g/día. CMSS: consumo de suplemento en kg/día. NIS: nitrógeno ingerido del suplemento en g/día. CMST = CMSF + CMSS: consumo total de materia seca en kg/día. CMCT/PV: ingestión de materia seca como porcentaje del peso vivo. NIT: nitrógeno total ingerido en g/día.

2/: Medias seguidas por letras iguales en la misma fila no son significativamente diferentes según prueba de Duncan ($p > 0,05$). * ($p < 0,05$) ** ($p < 0,01$) *** ($p < 0,001$). NS: no significativa.

Tabla 4. Producción de heces y excreción de nitrógeno en una pastura asociada gramínea leguminosa y una mixta de gramíneas

Variables ^{1/}	Pastura asociada		Pastura mixta		Significancia ^{2/}
	Promedio	DE	Promedio	DE	
PHEC, kg/vaca/día	8,24	0,92	7,74	0,19	NS
NH, %	2,62 a	0,15	2,37 b	0,14	*
NH, g/vaca/día	216,68 a	0,02	183,98 b	0,01	*
NAP, g/vaca/día	445,78	0,06	489,52	0,05	NS
DAN, %	67,06	5,76	72,56	2,37	NS
NH/NTI, %	32,93	5,76	27,43	2,37	NS

1/: PHEC: producción de heces en kg/día. NH: nitrógeno en las heces g/día. NAP = NIT - NH: nitrógeno absorbido aparente en g/día. DAN = (NIT - NH)/NIT: digestibilidad aparente del nitrógeno. NH/NTI: nitrógeno en las heces como proporción del nitrógeno ingerido.

2/: Medias seguidas por letras iguales en la misma fila no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) según prueba de Duncan * ($p < 0,05$) ** ($p < 0,01$) *** ($p < 0,001$). NS: no significativa.

Tabla 5. Producción de orina y nitrógeno metabolizado en una pastura asociada gramínea-leguminosa y una mixta de gramíneas

Variables ^{1/}	Pastura asociada		Pastura mixta		Significancia ^{2/}
	Promedio	DE	Promedio	DE	
POR L/vaca/día	30,47	1,54	34,05	2,08	NS
NO %	0,62 b	0,03	0,75 a	0,08	*
NO g/vaca/día	191,16 b	0,01	254,54 a	0,02	**
NO/NTI %	28,86 b	1,01	37,90 a	5,76	**
NMA g/vaca/día	254,61	0,05	234,97	0,06	NS
MN %	38,19	6,7	34,66	7,19	NS

1/: POR: producción de orina en L/día. NO: nitrógeno en orina en g/día. NO/NTI: nitrógeno urinario como proporción del nitrógeno ingerido. NMA = NAP - NO: nitrógeno metabolizable aparente en g/día. MN = (NAP-NO)/NTI: metabolizabilidad del nitrógeno.

2/: Medias seguidas por letras iguales en la misma fila no son significativamente diferentes según prueba de Duncan ($p > 0,05$). * ($p < 0,05$) ** ($p < 0,01$) *** ($p < 0,001$). NS: no significativa.

de la pastura asociada con 0,62%, dando mayor nivel de excreción de nitrógeno en orina ($p < 0,05$) en la pastura mixta (254,54 g) frente a la asociada (191,16 g). También se presentaron diferencias ($p < 0,05$) en la relación de nitrógeno en orina del total ingerido (NO/NTI), con 37,9% en la pastura mixta, frente a 28,86% en la pastura asociada. En cuanto al nitrógeno metabolizable aparente (NMA) y la metabolizabilidad del mismo (MN) no se presentaron diferencias ($p > 0,05$) entre los dos grupos de animales en cada pastura.

Variables de eficiencia y balance de nitrógeno en el animal

La producción de leche (PL) (tabla 6) fue mayor en las vacas que consumieron la pastura asociada ($p < 0,01$) con 23,24 L/v/d frente a las que pastaban la mixta de gramíneas con 19,85 L/v/d. Para el caso del nitrógeno en la leche (NL) se presentaron diferencias ($p < 0,05$), siendo mayor en la leche de las vacas en la pastura asociada (0,5%) frente a la mixta (0,43%), lo que mostró que existieron también diferencias en la producción total de nitrógeno en la leche (NL) con 115,86 g en la leche de las vacas en la pastura asociada y 85,32 g en la mixta.

Respecto a la eficiencia de uso del nitrógeno (NL/NTI), que relaciona el nitrógeno de la leche sobre el total ingerido, se observaron diferencias ($p < 0,05$) siendo más eficiente el uso del nitrógeno en los animales que pastorearon la pastura asociada (17,55%) frente a los de la pastura mixta (12,78%). Para las variables de retención de nitrógeno (NR) y nitrógeno para producción (NP) y la relación de éste con el total ingerido (NP/NTI) no hubo diferencias entre los grupos de vacas en cada pastura ($p > 0,05$)

Balance de nitrógeno en las pasturas según los supuestos del modelo de Thomas y colaboradores (1992)

Para este balance se tomó como unidad integral la pastura que se encontraba en un determinado suelo. En el presente estudio se parte de los supuestos empleados en este modelo para trópico bajo y se determinó el valor real de los supuestos para el caso de trópico alto; los supuestos que no se corroboraron se asumieron como los del modelo inicial.

En la tabla 7 se observa el modelo de simulación aplicado para cada una de las pasturas; se parte del nitró-

Tabla 6. Eficiencia y balance de nitrógeno en vacas Holstein en una pastura asociada gramínea-leguminosa y una mixta de gramíneas

Variables ^{1/}	Pastura asociada		Pastura mixta		Significancia ^{2/}
	Promedio	DE	Promedio	DE	
PL L/vaca/día	23,24 a	3,58	19,58 b	2,36	**
NL %	0,50 a	0,007	0,43 b	0,04	*
NL g/vaca/día	115,86 a	0,01	85,32 b	0,006	**
NL/NTI %	17,55 a	3,00	12,78 b	1,97	*
NR g/vaca/día	138,75	0,05	149,64	0,06	NS
NP g/vaca/día	254,61	0,07	234,97	0,09	NS
NP/NTI %	38,20 a	1,03	34,66 b	0,89	*

1/: PL: producción de leche L/día. NL: nitrógeno de la leche g/día. NTI: nitrógeno total ingerido. NR: balance de nitrógeno o nitrógeno retenido g/día (NTI - NH - NO - NL). NP: nitrógeno en producción animal g/día (NTI - NH - NO). NP/NTI: nitrógeno en producción animal como proporción del nitrógeno ingerido.

2/: Medias seguidas por letras iguales en la misma fila no son significativamente diferentes según prueba de Duncan ($p > 0,05$). * ($p < 0,05$) ** ($p < 0,01$) *** ($p < 0,001$). NS: no significativa.

Tabla 7. Balance de nitrógeno simulado en una pastura asociada gramínea-leguminosa y una mixta de gramíneas empleando el modelo de Thomas y colaboradores

Estimación de N en diferentes etapas (kg N/ha/año)	Ítem	Pastura asociada	Pastura mixta
Fijación (kg N/ha/año)	A	300,0	0
N en biomasa (MS * N (%))	B	591,5	482,9
Gramínea (MS * N (%))		343,2	482,9
Leguminosa		248,3	0
Ingestión N (A * 40, 50%)	C	236,6	241,5
N producción animal (C * 20%)	D	47,3	48,3
Excretas animales (C * 80%)	E	189,3	193,2
Retomado planta (E * 30%)	F	56,8	57,9
Reciclado interno (B - C) * 50%	G	177,5	120,7
Hojarasca (G * 40%)	H	71,0	48,3
Total reciclado (A+F+G+H)	I	605,3	227,0
Balance			
Fertilización		0	400
Extraído plantas	J	591,4	482,9
Cantidad retomada	K	605,3	227
Déficit (J - K) ¹	L	- 13,9	255,9

1/: Cuanto mayor sea el déficit mayor cantidad de nitrógeno debe aplicarse de fuentes externas al sistema.

geno fijado por la leguminosa en la pastura asociada que corresponde al 90% de sus requerimientos (300 kg); se obtuvo el contenido de nitrógeno en la biomasa que corresponde a la producción de cada pastura durante el año (8 cortes), y se calculó el porcentual de N correspondiente. Así, se tienen 591,5 kg para la pastura asociada y 482,9 kg para la mixta.

En cuanto a la ingestión animal el modelo sugiere que una pastura asociada tendría un valor de 40% y una mixta, de 30%. En este estudio, con los valores de consumo estimados, los consumos fueron de 40% para la pastura asociada y 50% para la mixta, tomando como 100% el N de la biomasa. Las excretas animales corresponden a 80% del N ingerido y el valor del modelo es muy cercano al de este estudio, por lo tanto no se modificó, pero se observó que el nivel de N en las excretas fue más alto en la pastura mixta que en la asociada. Tampoco se modificó el valor del N retomado por la planta, el de reciclado interno y el de hojarasca, que en este caso corresponde a 40% del N reciclado interno.

Con todos los parámetros establecidos para el modelo, se realizó el balance en el sistema de pastura. La pastura mixta recibe 400 kg N/ha/año, suministrados en 50 kg de N/ha/corte durante 8 cortes al año. Para el caso de las dos pasturas, el valor de reciclaje corresponde a la suma del nitrógeno fijado, el retomado por la planta, el reciclado interno, el de la hojarasca, y el extraído por las plantas para determinar si el sistema de pastura presenta o no

déficit del elemento. En este estudio se pudo observar que la pastura mixta presentó un valor en el balance de 255,9 kg y la pastura asociada, de -13 kg. Lo anterior indica que en la pastura mixta la cantidad de N para el balance en el sistema es de 255,9 kg, los cuales en ausencia de entradas deben venir directamente de otras fuentes como mineralización en el suelo, deposición seca o con las lluvias; en cuanto a la pastura asociada el valor corresponde a un balance positivo (-13,9 kg), donde se ve el efecto del aporte de N que hace la leguminosa y además el incremento sobre la producción animal.

DISCUSIÓN

Consumo y entradas de nitrógeno

El National Research Council (2001) afirma que para vacas lecheras multíparas el consumo total de materia seca entre las semanas 5 y 30 de lactancia se encuentra entre 23 y 25 kg MS/día o sea 3,6% de su PV. En el presente estudio, el consumo de materia seca total fue superior al estipulado por el NRC y a lo reportado por Kalscheur y colaboradores (1999) en vacas en el segundo tercio de la lactancia alimentadas con una dieta de 13,2% de proteína cruda con un valor de 20,8 kg MS/día equivalente a 3,45% del PV. Sin embargo, en el presente estudio a pesar de las diferencias en consumo, no se afectó el nitrógeno total ingerido y se relacionó directamente con un mayor contenido de nitrógeno en el forraje de la pastura asociada.

En diferentes investigaciones se encontró que se podrían relacionar las diferencias en consumo de materia seca con el contenido de taninos en *L. uliginosus*, lo que puede limitar el consumo de la leguminosa en la pastura asociada (Min *et al.*, 2003; Decruyenaere *et al.*, (2009). Al igual que en Pereira y colaboradores (2009), en la presente investigación el muestreo y método de determinación del consumo no estableció cuánto del consumo diario correspondió a gramínea y cuánto a leguminosa, aunque se observó que debido al manejo diario de la cuerda del pastoreo no hubo selección por parte de los animales.

Excreción de nitrógeno en heces y orina

En cuanto a la excreción de nitrógeno en heces, varios autores han reportado que la cantidad de heces puede variar con la cantidad y la digestibilidad del alimento que consume el animal, encontrándose valores entre 2,5 a 6,5 kg de heces en MS día en ganado de leche, con un contenido de materia seca entre 8% y 16% (Churo, 1976; Haynes y Williams, 1993; Ledgard *et al.*, 1999; Betancur y Trujillo, 2003; Spears *et al.*, 2003). Otros estudios han mostrado el contenido de N en las heces de bovinos y ovinos pastoreando gramíneas + tréboles u otras mezclas de gramíneas y leguminosas, el cual varía en un rango de 1,2% a 4,0% de la materia seca (Dickinson *et al.*, 1981; Kirchmann, 1992; Jonker *et al.*, 1998; Ledgard *et al.*, 1999; Astarriaga *et al.*, 2002). La producción normal de nitrógeno en las heces de una vaca varía entre 100 y 200 g/día, con 7 a 15 defecaciones por día (Spedding, 1971; Betancur y Trujillo, 2003; Correa, 2003).

En este estudio se pudo observar que los valores reportados para el contenido de nitrógeno en las heces y la excreción diaria de nitrógeno (g/día) se encuentran dentro de rangos ya observados por otros estudios; siendo particular para este caso la mayor excreción de nitrógeno en las heces de las vacas alimentadas con la pastura asociada, lo que puede ser causa de variaciones en las vías de excreción de nitrógeno, asociado directamente con el tipo de pastura. Varios reportes coinciden en que después ingerir cierta ración de taninos se produce un aumento en la excreción de nitrógeno en las heces, debido a la disminución en la digestibilidad de la proteína, encontrándose no solo nitrógeno proveniente de la proteína alimentaria no degradada sino también de la proteína de origen endógeno (Hill *et al.*, 1987; Nishimuta *et al.*, 1973; Min *et al.*, 2003; Posada *et al.*, 2005).

En cuanto a la producción y excreción del nitrógeno en la orina, también se encontró el efecto de la pastura. En este estudio se observó que la salida de N aumentó en la orina en animales que pastaban la pastura mixta de gramíneas y disminuyó en los que consumían la pastura

asociada. Esta disminución de N en se debe quizás a su menor degradación por parte de los microorganismos del rumen, debido a la presencia de taninos en la dieta (Ben Salem *et al.*, 2000; Carulla *et al.*, 2005). En un trabajo similar realizado por Grieve y colaboradores (1980) con animales alimentados con un 14% de PC reportó una excreción de 126,1 g/día, valor inferior al obtenido en este estudio. La producción de orina también está dentro del rango normal reportado por otros autores (10 a 40 L/día) entre 8 a 12 micciones diarias (Spedding, 1971; Betteridge *et al.*, 1986; Colmes, 1989; Haynes y Williams, 1993), con un contenido dentro de un rango de 0,2% a 2,0% de la materia seca en nitrógeno, para un rango de producción de 100 a 150 g/v/d (Betteridge *et al.*, 1986; Ledgard *et al.*, 1999; Kohn *et al.*, 2002; Betancur y Trujillo, 2003; Correa, 2003; Kohn *et al.*, 2005).

En la presente investigación se destaca que, para el caso de la pastura asociada hubo mejor relación entre el nitrógeno que ingiere el animal y el que se excreta en la orina, lo que sugiere mayor empleo del nitrógeno ingerido de la pastura asociada frente a la pastura mixta, donde para la primera la proporción de nitrógeno en la orina es menor con relación al nitrógeno total ingerido. Lo anterior indica directamente una menor excreción de nitrógeno al medio como material contaminante, efecto directamente asociado a la presencia de taninos en la leguminosa de la pastura asociada como ya se ha reportado en otros estudios (Flores *et al.*, 1999; Ben Salem *et al.*, 2005; Tiemann *et al.*, 2008; Otukoya y Babayemi, 2008).

Eficiencia y balance del nitrógeno en el animal

La producción de leche fue mayor en las vacas que pastaban la pastura asociada, debido quizás a un contenido mayor de nitrógeno de la misma y relacionado directamente con la presencia de taninos en la leguminosa de esta pastura. Se destaca que la eficiencia del N fue más alta en la pastura asociada frente a la mixta, si bien se encuentra entre los rangos reportados por autores como Betancur y Trujillo (2003) en Antioquia (18%). También Moorby y Theobald (1999) afirman que la conversión del nitrógeno dietario en nitrógeno lácteo es ineficiente llegando a ser sólo de 20% a 30% del nitrógeno ingerido; similar comportamiento ha sido reportado en otros autores (Baker *et al.*, 1995; Kalscheur *et al.*, 1999; Correa, 2003). Otros estudios presentan eficiencias con rangos entre 25% y 30% en el balance de nitrógeno para ganado de leche (Ledgard *et al.*, 1999; Astarriaga *et al.*, 2002; Jonker *et al.*, 2002).

Sin embargo, se debe enfatizar que para el presente estudio los animales en pastoreo en la pradera asociada presentaron valores más altos de eficiencia frente a aquellos en pastoreo en la pradera mixta, lo que indica que en

la primera hubo un mejor flujo del nitrógeno en el animal hacia la producción de leche y la generación de tejido. Kalscheur y colaboradores (1999) reportaron valores de nitrógeno total en leche para vacas en el segundo tercio de la lactancia superiores a los obtenidos en este trabajo, los cuales oscilaron entre 123,87 y 133,0 g/día. En general, se puede decir que con la inclusión de la leguminosa con taninos, como en este estudio, se presentan cambios en las vías de excreción del nitrógeno partiendo de un nivel similar de nitrógeno ingerido donde se observó que la utilización del último puede ser más eficiente si el nivel de ingestión de taninos es adecuado.

Balance de nitrógeno según el modelo de Thomas y colaboradores

Este modelo de simulación fue utilizado por Cárdenas (2003) en diferentes pasturas de clima frío para la misma zona de este estudio, encontrando que las praderas de gramíneas asociadas a la leguminosa *Lotus uliginosus* presentaron un balance favorable para el nitrógeno en el suelo (valor negativo), siendo el caso de *F. arundinacea* + *Lotus* (-22 kgN/ha/año) frente a especies con balance desfavorable (valor positivo) como *P. clandestinum* (puro). En el mismo estudio también se observó que cultivares del género *Lolium* presentaron balances desfavorables y elevados. Sin embargo, dicho estudio fue una aproximación en la que el punto de partida fue la producción de biomasa y el contenido de nitrógeno de ésta, mas no se realizó bajo efecto del pastoreo directo. Cárdenas (2003) concluye que existen gramíneas ineficientes en el uso del nitrógeno aplicado y que la leguminosa ejerce un factor mejorante en el balance del nitrógeno en el suelo al asociar las gramíneas, reduciendo así la necesidad de fertilizante nitrogenado que deba aplicarse a la pradera.

Estos reportes coinciden con los realizados por Whitehead (1995) para pasturas de *raigrás* asociadas con *Trifolium* sp. con un balance de 39 a 130 kg N/ha/año. También para la cantidad de nitrógeno retomado por las plantas, los cuales concuerdan con los reportes de Simpson (1981) en pasturas de *Dactylis glomerata*

asociadas con *Trifolium* sp. de 154 kg N/ha/año y con *Medicago sativa* de 48 kg N/ha/año. También Ledgard y colaboradores (1999) reportaron en pasturas de *raigrás* más tréboles -34 kgN/ha/año en pasturas sin fertilización nitrogenada y -24 kgN/ha/año en pasturas con 400 kgN/ha/año. En el estudio de Spears y colaboradores (2003) en diferentes granjas de lechería especializada en Estados Unidos, la mayoría de los reportes muestran 80,84 kg N/ha/año como potencial de pérdida.

CONCLUSIONES

La pastura asociada de *Festuca* + *Lotus uliginosus* reflejó mejores parámetros de calidad de la leche, en especial el contenido de proteína y caseína.

En la asociación *F. arundinacea* + *L. uliginosus* se reduce la emisión de nitrógeno en orina.

Los animales que pastorearon la asociación *F. arundinacea* + *L. uliginosus* mostraron mejor eficiencia en el uso del nitrógeno que los animales que pastorearon praderas de gramíneas mixtas fertilizadas con nitrógeno.

L. uliginosus puede ser empleada en los sistemas de producción de lechera como factor mejorante de la dieta, de la producción y de la eficiencia de uso del nitrógeno.

El uso de pasturas asociadas de gramínea y leguminosa en sistemas ganaderos de trópico alto puede contribuir a la reducción de costos por fertilización nitrogenada.

AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoría de Investigaciones, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, por la financiación de esta investigación en la modalidad 7: apoyo a tesis de maestría y especialidades en el área de la salud (Convocatoria Nacional de Investigación 2006). Y al personal de apoyo del Laboratorio de Nutrición Animal y del Centro Agropecuario Marengo.

REFERENCIAS

- Association of Analytical Communities (AOAC). 1984. Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists. 14 ed., Washington D. C.
- Astarriaga L, Peyraud JL, Dealby L. 2002. Effect of nitrogen fertilizer rate and protein supplementation on the herbage intake and the nitrogen balance of grazing dairy cows. *Animal Research* 51: 279-293.
- Baker LD, Ferguson JD, Chalupa W. 1995. Responses in urea and true protein of milk to different protein feeding schemes for dairy cows. *Journal Dairy Science* 78(11): 2424-2434.
- Bargo F, Muller LD, Delahoy JE, Cassidy TW. 2002. Milk Response to Concentrate Supplementation of High Producing Dairy Cows Grazing at Two Pasture Allowances. *Journal of Dairy Science* 85(7): 1777-1792.
- Barreto TN. 1999. La chinche de los pastos: Principal problema tecnológico de la ganadería de leche. En: Memorias XXVI Congreso Sociedad Colombiana de Entomología, Bogotá, 28, 29 y 30 de Julio de 1999. Editora Guadalupe, LTDA. pp. 175-186.
- Ben Salem H, Nefzaouia A, Ben Salem L, Tisserand JL. 2000. Deactivation of condensed tannins in *Acacia cyanophylla* Lindl. foliage by polyethylene glycol in feed blocks: Effect on feed intake, diet digestibility, nitrogen balance, microbial synthesis and growth by sheep. *Livestock Production Science* 64(1): 51-60
- Ben Salem H, Nefzaouia A, Ben Salem L, Makkarb HPS, Hochlefa H, Ben Salema L. 2005. Effect of early experience and adaptation period on voluntary intake, digestion, and growth in Barbarine lambs given tannin-containing (*Acacia cyanophylla* Lindl. foliage) or tannin-free (oaten hay) diets. *Animal Feed Science and Technology* 122(1-2): 59-77.
- Bermingham EN, Hutchinson KJ, Revell DK, Brookes LM, McNabb WC. 2001. The effect of condensed tannins in sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) and sulla (*Hedysarum coronarium*) on the digestion of amino acids in sheep. *New Zealand Society of Animal Production* 61: 116-119.
- Bernal AH. 1984. Establecimiento y manejo de pastos de clima frío. En: Curso de actualización en tecnología pecuaria, distrito Rionegro, Antioquia, Colombia, pp. 29-35.
- Betancur JF, Trujillo LG. 2003. Balance de nitrógeno de vacas lecheras de alta producción alimentadas con pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y dos niveles de suplementación de proteína no degradable en el rumen, (tesis) Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín. 30 p.
- Betteridge K, Andrewes W, Sedcole J. 1986. Intake and excretion of nitrogen, potassium and phosphorus by grazing steers. *Journal of Agricultural Science*. 106: 393-404.
- Cárdenas EA. 2000. Perspectivas de investigación en forrajes para la región Alto Andina de Colombia. En: XI Encuentro Nacional de Zootecnistas, Medellín, Colombia, Junio del 2000. 11 p.
- Cárdenas REA. 2003. Evaluación de una alternativa para disminuir el impacto ambiental que causan los fertilizantes nitrogenados en las pasturas de clima frío en Colombia, (tesis de maestría), Bogotá, Instituto de Estudios Ambientales (IDEA), Universidad Nacional de Colombia.
- Carulla JE, Kreuzer M, Machmüller A, Hess HD. 2005. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*. 56(9):961-970.
- Castro RE. 2004. Evaluación de adaptación y compatibilidad de 10 gramíneas para clima frío asociadas con *Lotus corniculatus* en Mosquera, Cundinamarca, (tesis), Bogotá, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, 120 p.
- Church D. 1976. Digestive physiology and nutrition of Ruminants. Vol. 1. Digestive physiology. 2nd ed. O and B books, Corvallis, Oregon.
- Correa HJ. 2003. Simulación del metabolismo del nitrógeno en vacas lactantes. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 16(3): 220-227.
- Decruyenaere V, Lecomte Ph, Demarquilly C, Aufrerec J, Dardenne P, Stilmant D. 2009. Evaluation of green forage intake and digestibility in ruminants using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Developing a global calibration. *Animal Feed Science and Technology* 148(2-4): 138-156.
- Dickinson C, Underhay V, Ross V. 1981. Effect of season, soil fauna and water content on the composition of cattle dung pats. *New Phytologist*. Washington D.C. 88: 129-141.
- Flores O, Ibrahim M, Kass D, Andrade H. 1999. El efecto de los taninos de especies leñosas forrajeras sobre la utilización de nitrógeno por bovinos. *Agroforestería en las Américas* 6(23): 42-44.
- González J, Jiménez C, Méndez J, Ortiz L, Ruiz A, Vargas A. 1997. Levantamiento edafológico del centro Agropecuario Marengo. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, pp. 1-64.
- Grieve E, Wheeler E, Yu Y, Macleod GK. 1980. Effects of dry or ensiled feeds and protein percent on milk production and nitrogen utilization by lactating cows *Journal Dairy Science* 63(8): 1282-1290.
- Haynes R, Williams P. 1993. Nutrient cycling and soil fertility in the grazed pasture ecosystem. *Advances in Agronomy* 49: 119-199.
- Hill GM, Utley PR, Newton GL. 1987. Dietary urea influences on digestibility and utilization of diets containing peanut skins by steers. *Journal of Animal Science*. 64(1): 1-7
- Holden LA, Muller LD, Fales SL. 1994. Estimation of Intake in Grazing Grass Pasture High Producing Holstein Cows. *Journal of Dairy Science* 77(8): 2332-2340.
- Holmes W. 1989. *Grass: its Production and utilization*, 2nd ed., Oxford, Blackwell Scientific Publications. IDEAM. 1998. El medio ambiente en Colombia. : Leyva P, (ed., Instituto de hidrología, meteorología y estudios ambientales, Bogotá. JICA. 2000. Agencia de Cooperación Internacional del Japón. Estudio sobre el plan de mejoramiento ambiental regional para la cuenca de la laguna de Fúquene. Informe final. Corporación Autónoma Regional (CAR). Vol 3. Informe de soporte. Mayo del 2000.
- Jonker JS, Kohn RA, Erdman RA. 1998. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 81(10): 2681-2692.
- Jonker JS, Kohn RA, High J. 2002. Dairy herd management practices that impact nitrogen utilization efficiency. *Journal of Dairy Science* 85(5): 1218-1226.
- Kalscheur KF, Vandersall JH, Erdman RAA, Kohn RA, y Russek-Cohen E. 1999. Effects of dietary crude protein concentration and degradability on milk production responses of early, mid, and late lactation dairy cows. *Journal Dairy Science*. 82(3):545-554
- Kirchmann H, Witter E. 1992. Composition of fresh, aerobic and anaerobic farm animal dungs. *Bioresource technology* 40(2): 137-142.
- Kohn RA, Dinnen MM, Russek-Cohen E. 2005. Using blood urea nitrogen to predict nitrogen excretion and efficiency of nitrogen utilization in cattle, sheep, goats, horses, pigs and rats. *Journal of Animal Science* 83(4): 879-889.
- Kohn Ra, Dou Z, Ferguson JD, Boston RC. 1997. A sensitivity analysis of nitrogen losses from dairy farms. *Journal of Environmental Management* 50(4): 417-428.
- Kohn RA, Kalscheur KF, Russek-Cohen E. 2002. Evaluation of Models to Estimate Urinary Nitrogen and Expected Milk Urea Nitrogen. *Journal of dairy science* 85(1): 227-233.

- Ledgard SF, Penno JW, Sprosen MS. 1999. Nitrogen inputs and losses from clover/grass pastures grazed by dairy cows, as affected by nitrogen fertilizer application. *Journal of Agricultural Science* 132(2): 215-225.
- Lotero J. 1993. Producción y utilización de los pastizales de las zonas alto andinas de Colombia. Red de pastizales andinos, REPAAN, Quito, 155 p.
- Meyer D. 2000. Dairying and the environment. *Journal of Dairy Science* 83(7): 1419-1427.
- Min, BR, Barry TN, Attwood, GT, McNabb, WC. 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Animal Feed Science and Technology* 106(1-4): 3-19.
- Molan AL, Attwood GT, Min BR, McNabb WC. 2001. The effect of condensed tannins from *Lotus pedunculatus* and *Lotus corniculatus* on the growth of proteolytic rumen bacteria in vitro and their possible mode of action. *Canadian Journal of Microbiology* 47(7): 626-633.
- Moorby JM, y Theobald VJ. 1999. Short communication: the effect of duodenal ammonia infusions on milk production and nitrogen balance of the dairy cow. *Journal Dairy Science* 82(11):2440-2442.
- Murgueitio E. 2003. Impacto ambiental de la ganadería de leche en Colombia y alternativas de solución. *Livestock Research for Rural Development*. 15 (10).
- National Research Council. 2001. The nutrient requirement of dairy cattle. 7th ed. Washington DC, National Academy Press, 381 p.
- Nishimuta, JF, Ely, DG, Boling, JA. 1973. Nitrogen metabolism in lambs fed soybean meal treated with heat, formalin and tannic acid. *Journal of nutrition*. 103(1): 49-53.
- Otukoya FK, Babayemi OJ. 2008. Supplementation of *Leucaena leucocephala* hay as protein enrichment for cassava peels in West African dwarf goats. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 6(2): 247-250
- Pereira JM, Tarré RM, Macedo R, De Paula Rezende C, Alves BJR, Urquiaga S, Boddey RM. 2009. Productivity of *Brachiaria humidicola* pastures in the Atlantic forest region of Brazil as affected by stocking rate and the presence of a forage legume. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 83(2).
- Posada, SL, Montoya, G, Ceballos, A. 2005. Efecto de los taninos sobre la digestión, el metabolismo y la producción en rumiantes. En: Pabón M, Ossa J, (eds.), *Bioquímica, nutrición y alimentación de la vaca.. Biogénesis*. Medellín, Colombia.
- Rogosic J, Estell RE, Ivankovic S, Kezic J, Razov J. 2008. Potential mechanisms to increase shrub intake and performance of small ruminants in Mediterranean shrubby ecosystems. *Small Ruminant Research*, 74(1-3): 1-15
- Rotz CA, Satter LD, Mertens DR, Muck RE. 1999. Feeding strategy, nitrogen cycling, and profitability of dairy farms. *Journal of Dairy Science* 82(12): 2841-2855.
- SAS (Statistical analysis system institute). 1996. SAS STAT User's Guide. Version 6.2. 4th ed. SAS Institute Inc. Cary. North Carolina, USA. pp. 35-54.
- Silva PJV. 1986. Manejo y registro de praderas de clima frío. En: Seminario nacional de ganado de leche, "Producción de ganado lechero en zonas frías". ICA. Pasto, Colombia, pp. 243-248.
- Simpson J, Stobbs J. 1981. Nitrogen supply and animal production from pastures. En: Morley F, *Grazing animals*. Elsevier. Amsterdam, Netherlands. pp. 261-287.
- Spears RA., Kohn RA, Young AJ. 2003. Whole-Farm Nitrogen Balance on Western Dairy Farms. *Journal of dairy science* 86(12): 4178-4186.
- Spedding C. 1971. *Grassland ecology*. Clarendon Press, Oxford, England.
- Thomas R, Lascano C, Sanz J, Ara M, Spain J, Vera R, y Fisher M. 1992. The role of pastures in production systems. En: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). *Pastures for the tropical lowlands*. Cali, Colombia. pp. 121-144.
- Tiemann TT, Lascano CE, Wettstein HR, Mayer AC, Kreuzer M, Hess HD. 2008. Effect of the tropical tannin-rich shrub legumes *Calliandra calothyrsus* and *Flemingia macrophylla* on methane emission and nitrogen and energy balance in growing lambs. *Animal* 2(5): 790-799.
- Valadares RFD, Broderick GA, Valadares SC, Filho Clayton MK. 1999. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *Journal of dairy science* 82(12): 2686-2696.
- Waller J, Merchen N, Hanson T, Klopfenstein T. 1980. Effect of sampling intervals and digesta markers on abdominal flow determinations. *Journal of Animal Science* 50: 1112.
- Whitehead DC. 1995. *Grassland nitrogen*. CAB International. Oxon, England. 396 pp.