



Caracterización nutricional y producción de gas de especies vegetales con potencial alimenticio para la alimentación de rumiantes

Elia E Araiza-Rosales¹ ; Gerardo A Pámanes-Carrasco² ; Juan F Sánchez-Arroyo¹ ; Esperanza Herrera-Torres³ ; Martha Rosales-Castro⁴ ; Francisco O Carrete-Carreón^{1*}

¹Universidad Juárez del Estado de Durango, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Durango, México.

²Universidad Juárez del Estado de Durango, Instituto de Silvicultura e Industria de la Madera, Durango, México.

³Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, Durango, México.

⁴Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Durango, México.

*Correspondencia: focc1928mx@yahoo.com

Recibido: Enero 2021; Aceptado: Diciembre 2021; Publicado: Marzo 2022.

RESUMEN

Objetivo. Evaluar la composición química, contenido de compuestos fenólicos, cinética de producción de gas y emisiones de metano (CH₄) *in vitro* de siete especies vegetales con potencial alimenticio para alimentación de rumiantes. **Materiales y métodos.** Siete especies fueron evaluadas: encino gris (EG), encino rojo (ER), chicalote (CHIC), mezquite (MEZ), huizache (HUI), morera (MOR) y la estevia (STE). Los análisis de las muestras fueron: extracto etéreo (EE), cenizas (Cen), proteína cruda (PC), carbohidratos no estructurales (CNE), fibra en detergente neutro (FDN), fibra en detergente ácido (FDA), hemicelulosa, celulosa, lignina detergente ácida (LDA), taninos condensados (TC) y fenoles totales (FT), digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS); así como las condiciones ruminales *in vitro*, producción de gas (PG), producción de metano y dióxido de carbono (CO₂), nitrógeno amoniacal (N-NH₃) y ácidos grasos volátiles (AGV's). **Resultados.** Los resultados muestran que HUI, MEZ y MOR presentaron un mayor contenido de PC, las mayores digestibilidades (DIVMS) se observaron en CHIC, HUI y STE. De lo contrario, las producciones de metano más bajas fueron generadas por MEZ, ER Y HUI. **Conclusiones.** De acuerdo con los resultados en la composición química, CHIC, MOR y STE presentaron la mejor calidad nutricional ya que mostraron los más altos contenidos de proteína y una digestibilidad adecuada. Estos resultados sugieren que el uso de CHIC no afectaría las características nutricionales que ofrece un forraje de buena calidad. Además, las otras especies pueden usarse como aditivos o suplementos para alimentar a los rumiantes debido a su mayor contenido de proteína y taninos condensados.

Palabras clave: Metano; composición química; compuestos fenólicos; rumiantes (*Fuente: USDA*).

ABSTRACT

Objective. To evaluate the chemical composition, phenolic compounds content, and *in vitro* methane and gas production kinetics of seven vegetable species as potential feedstuffs for ruminants

Como citar (Vancouver).

Araiza-Rosales EE, Pámanes-Carrasco GA, Sánchez-Arroyo JF, Herrera-Torres E, Rosales-Castro M, Carrete-Carreón F. Caracterización nutricional y producción de gas de especies vegetales con potencial alimenticio para la alimentación de rumiantes. Rev MVZ Córdoba. 2022; 27(2):e2142. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2142>



©El (los) autor (es) 2022. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

feeding. **Materials and methods.** Seven species were evaluated: gray oak (GO), red oak (RO), prickly poppies (PP), mesquite (MES), wattle tree (WT), white mulberry (WM) and stevia (STE). The analyses of the samples were: ether extract (EE), ash, crude protein (CP), non-structural carbohydrates (NSC), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose, cellulose, acid detergent lignin (ADL), condensed tannins (CT), total phenolic compounds (TPC), in vitro dry matter true digestibility (IVDMD); as well as under in vitro ruminal conditions, gas production (GP), methane and carbon dioxide CO₂ production, N-ammonia, and volatile fatty acids (VFA). **Results.** The results show that WT, MES and WM foliage presented the highest content in CP, the highest digestibility's (IVDMD) were observed in PP, WM and STE. Otherwise, the lowest methane productions were generated by MES, RO and WM. **Conclusions.** According to the results in the chemical composition, PP, WM and STE presented the best nutritional quality since they showed the highest protein contents and an adequate digestibility. These results suggest that the use of PP would not affect the nutritional characteristics offered by good quality forage. In addition, the other species may be used as additives or supplements for feeding ruminants because of their higher protein and CT contents.

Keywords: Methane; chemical composition; phenolic compounds; ruminants (*Source: CAB*).

INTRODUCCIÓN

La producción pecuaria es una actividad económica que impacta negativamente al cambio climático. El metano y el dióxido de carbono son los principales gases responsables del efecto invernadero y son sintetizados en los rumiantes como producto de la fermentación ruminal. Por otro lado, el follaje obtenido de los árboles es una fuente importante de forraje para la alimentación de los rumiantes en zonas donde hay poco o nada de forraje disponible (1). Además, la gran importancia radica en el hecho de que estos forrajes no compiten con la alimentación humana; estas nuevas fuentes proveen de nutrientes esenciales al ganado a lo largo del año. De acuerdo a lo anterior, casi todas las plantas producen diversos componentes biológicos los cuales están clasificados como metabolitos primarios y secundarios; los metabolitos primarios son esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas; mientras que los metabolitos secundarios se producen principalmente como mecanismos de defensa contra la presencia de depredadores (2). Entonces, la presencia de taninos condensados e hidrolizables, como también las saponinas, son capaces de formar complejos con las proteínas reduciendo la digestibilidad. Además, correlaciones positivas son observadas entre estos componentes y la síntesis de metano ruminal (3).

En este sentido, hay un gran número de especies vegetales con una gran capacidad para reducir la síntesis de metano ruminal; estas especies ofrecen una alta calidad de nutrientes los cuales pueden ser usados como

aditivos o suplementos en la alimentación de rumiantes en sistemas extensivos e intensivos (4). Entonces, algunas especies de plantas como amapolas espinosas (*Argemone mexicana* L.), gris (*Quercus grisea* L.) y roja (*Quercus eduardi* Trel.) roble, así como arbustos como la acacia (*Acacia tortuosa* Standl), mezquite (*Prosopis laevigata* Humb. & Bonpl. ex Willd.), y la planta de la estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) contienen compuestos fenólicos (CF) como flavonoides, antocianinas, taninos, ácidos fenólicos y propiedades nutraceuticas que están correlacionadas positivamente con la capacidad inhibitoria de los protozoarios ruminales (5,6,7,8). Además, los ácidos grasos de cadena larga polinsaturados contenidos en la morera blanca (*Morus alba* L.) pueden contribuir en la reducción de la síntesis de metano ruminal (9).

Adicionalmente, los investigadores alrededor del mundo están alentando el uso de los sistemas silvopastoriles como un método de producción de ganado sustentable desde las reducciones en la producción de metano y se observan mejoras notables en las tierras de cultivo. Respecto a esto, las regiones como África, India, y América del sur están alimentando al Ganado con follaje producido en arbustos y árboles (10). También, algunas de estas especies vegetales se están produciendo en el norte de México. Por consiguiente, hay una necesidad imperativa de estudiar especies forestales que no son comúnmente utilizadas en la producción pecuaria como una alternativa de fuente de forraje y evaluar el efecto de estas en la producción de metano ruminal. Entonces, por lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar la composición química, el contenido

de compuestos fenólicos, la producción de metano *in vitro* y la cinética de producción de gas de algunas especies vegetales con potencial uso en la alimentación de rumiantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Especies vegetales. Las muestras de especies vegetales fueron recolectadas en el Norte de México en abril de 2019. Las especies propuestas y las áreas de recolección se presentan en la tabla 1. Tres árboles fueron muestreados por cada especie vegetativa y solamente se recolectaron las hojas al azar de la parte media de cada árbol, evitando tomar hojas externas en crecimiento activo. Las muestras recolectadas fueron mezcladas en un pool por especie.

Tabla 1. Especies vegetales propuestas y área de recolección en el presente estudio.

Especie	Nombre científico	Área de recolección	Localización geográfica
Encino gris (EG)	<i>Quercus grisea</i> L.	Durango, México	23° 91' N y 104° 71' W
Chicalote (CHIC)	<i>Argemone mexicana</i> L.	Durango, México	24° 27' N y 104° 07' W
Encino rojo (ER)	<i>Quercus eduardi</i> Trel.	Durango, México	23° 91' N y 104° 71' W
Mezquite (MEZ)	<i>Prosopis laevigata</i> a (Humb. & Bonpl. ex Willd.)	Durango, México	24° 06' N y 104° 41' W
Huizache (HUI)	<i>Acacia tortuosa</i> Standl	Durango, México	24° 06' N y 104° 41' W
Morera (MOR)	<i>Morus alba</i> L.	Durango, México	23° 95' N y 104° 57' W
Estevia (STE)	<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	Nayarit, México	21° 48' N y 105° 12' W

Composición química. Todas las muestras de especies vegetales fueron cortadas y el forraje obtenido fue secado en una estufa de aire forzado a 55°C por 48h. Posteriormente, las muestras fueron molidas en un molino Wiley mill (Arthur H. Thomas, Philadelphia, PA, EE. UU) a un 1mm de diámetro para realizar los análisis químicos. Los análisis de materia seca (MS), extracto etéreo (EE), cenizas (C) y proteína cruda (PC) fueron realizados de acuerdo a procedimientos estandarizados (11). Los componentes de la pared celular como fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácido (FDA), hemicelulosa, celulosa y lignina ácido

detergente (LAD) fueron determinados como lo propuso Van Soest et al (12) usando un equipo Analizador de fibra (Ankom Technologies, USA). Los carbohidratos no estructurales (CNE) fueron estimados de acuerdo a la siguiente ecuación;

$$\text{CNE} = [100 - (\text{PC} + \text{EE} + \text{Ceniza} + \text{FDN})].$$

La digestibilidad verdadera *in vitro* de la materia seca (DIVMS) fue determinada a través de medir la desaparición de la materia seca a las 48h a 39°C con líquido ruminal y solución buffer en una relación 2:1, respectivamente. La energía metabolizable (EM) fue estimada de acuerdo a la ecuación propuesta por Menke and Steingass (13) que es la siguiente:

$$\text{EM (MCal/Kg MS)} = [2.20 + 0.136(\text{PG}24\text{h}) + 0.0057(\text{PC}) + 0.0029(\text{EE}2)] / 4.184$$

Análisis de compuestos fenólicos.

Aproximadamente, 1 g de muestra de todas las especies vegetales fueron sometidas a una extracción utilizando 90 mL de una solución alcohólica (70% v/v) durante 24h. Posteriormente, los extractos se filtraron y se evaporaron con vacío a 40°C hasta que el etanol se eliminó por completo. Los extractos concentrados fueron secados a temperatura ambiente y pesados; la producción fue calculada en base a materia seca. Los taninos condensados (TC) fueron determinados de acuerdo a los procedimientos propuestos por Heimler et al. (14) usando catequina como estándar y la absorbancia fue medida en un espectrofotómetro a 500 nm (Genesys 10S, Thermo Scientific, USA). Por otro lado, los compuestos fenólicos totales (CFT) fueron determinados usando el método de Folin-Ciocalteu descrito previamente por Singleton and Rossi (15); el ácido galico fue usado como estándar y la absorbancia se midió 760 nm (Genesys 10S, Thermo Scientific, USA).

Producción de gas *in vitro*. La producción de gas *in vitro* fue llevada a cabo de acuerdo a la metodología propuesta por Theodorou et al (16). Primero, aproximadamente 1 g de muestra seca fue mezclada en módulos de vidrio con 120 mL de una solución preparada con solución buffer y líquido ruminal en una relación 2:1 e incubada por triplicado a 39°C durante 96h. El líquido ruminal fue obtenido de dos novillos fistulados de rumen y filtrado a través de cuatro capas de gasa para remover todas las partículas de alimento. Los módulos de vidrio están equipados

con transductores de presión electrónicos y los cambios en la presión fueron registrados las 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 38, 72 y 96h. La cinética de producción de gas fue estimada probando los datos obtenidos en la función de Gompertz de acuerdo a la siguiente ecuación (17):

$$PG = Ae^{-Le^{-(k_d t^b)}}$$

Donde PG= gas producido al tiempo "t" (mL/g MS); A= máxima producción de gas (mL); k_d = Tasa constante de producción de gas (h^{-1}); L= tiempo de latencia antes de iniciar la producción de gas (fase lag, h). Por otro lado, para determinar las proporciones de metano y dióxido de carbono, la válvula de presión fue abierta durante 2 s y el gas liberado fue conducido dentro de un analizador de gas (GEM5000, LANDTEC, USA) de acuerdo con Mills et al (18).

Parámetros de fermentación *in vitro*. El líquido ruminal fue obtenido de dos novillos con cánula ruminal y filtrada a través de cuatro capas de gasa para remover todas las partículas de alimento. Aproximadamente 1 g de muestra individual de forrajes fue fermentada con 120 mL de una solución preparada con solución buffer y líquido ruminal en una relación 2:1 y colocada dentro de módulos de vidrio equipados con tapa de acuerdo a Theodorou et al (16). Las muestras fueron incubadas por triplicado durante 24h. Una vez pasado el tiempo, los módulos fueron abiertos y se midió el pH inmediatamente; entonces, el líquido fue filtrado. El líquido filtrado fue dividido en dos sub-muestras. La primer sub-muestra fue mezclada 0.3 mL de ácido sulfúrico (50% v/v), mientras que la segunda sub-muestra fue mezclada con 2.5 mL de ácido (25% p/v) para la determinación de N-amoniaco y ácidos grasos volátiles (AGV), respectivamente (19).

Análisis estadístico. Todos los datos fueron analizados con un diseño completamente al azar usando los procedimientos GLM del SAS. La comparación de medias fue desarrollada con la prueba de Tukey y las diferencias estadísticas fueron declaradas a $p < 0.05$.

RESULTADOS

Composición química. Como se presenta en la Tabla 2, diferencias altamente significativas son observadas en la PC, cenizas, EE y CNE entre las especies vegetales ($p < 0.001$). Los contenidos de PC van del 8 al 17%; el follaje del huizache (HUI)

presentó el contenido más alto, mientras que, el más bajo fue observado en la estevia (STE). Por otra parte, el contenido de EE fue de 0.5 a 3%; la STE presentó el contenido más bajo de EE y el MEZ y el HUI los más altos. De otra manera, el contenido de ceniza en la morera (MOR) es el más alto (21.4%), mientras que el encino rojo (ER) presentó el más bajo (4.3%). En el mismo sentido, el encino gris y rojo (EG y ER, respectivamente) presentaron los contenidos más altos de FDN ($p < 0.05$); mientras que el CHIC y la STE presentaron los valores más bajos ($p < 0.05$). De igual manera, CHIC y STE presentaron las proporciones más altas de CNE debido a la presencia de carbohidratos rápidamente fermentables en la pared celular. Además, CHIC presenta el valor más bajo de energía metabolizable (EM) ($p < 0.05$); mientras que las otras especies vegetales presentaron valores similares ($p > 0.05$). A pesar de los valores obtenidos en la EM, las digestibilidades más bajas (DIVMS) se presentaron en EG, ER y HUI ($p < 0.05$).

Producción de gas *in vitro*. En la Tabla 3 se observaron diferencias estadísticas en los parámetros de la cinética de producción ($p < 0.001$). El rango de la Gmax va de 18.6 to 99 (mL/g MS) donde la más alta producción de gas fue observada en el chicalote (CHIC). Por otro lado, la más baja producción de gas se presentó en el huizache (HUI). Además, las especies vegetales que presentaron menores valores de producción de gas presentaron mayor tiempo de adaptación ($p < 0.05$); CHIC es la excepción ($p > 0.05$). En consecuencia, a lo expuesto anteriormente coincide con el tiempo requerido por los microorganismos para la adaptación y el inicio de la producción de gas. De la misma forma, la tasa de producción de gas se incrementa en las especies vegetativas referidas: CHIC, HUI, MEZ y STE. Igualmente, la GP_{24} presentó el mismo comportamiento que lo observado en el parámetro A.

De otra manera, la producción de metano presentó diferencias estadísticas entre las especies ($p < 0.05$). El CHIC registró la más alta producción de metano entre las especies ($p < 0.05$). Sin embargo, el CHIC también observó la máxima producción de gas más alta (parámetro A); por lo cual, la producción de metano puede estar sobreestimada. Por otra parte, las bajas las producciones más bajas de metano se registraron en MEZ, ER y MOR ($p < 0.05$). Lo anterior es consistente con los contenidos de TC en estas especies, las cuales obtuvieron los más altos en este estudio (1.5, 1.1 and 1.0 % para MEZ, ER, y MOR, respectivamente).

Table 2. Composición química (g/100g MS) y digestibilidad *in vitro* de la materia seca de las especies vegetales propuestas.

Nutrientes (%)	Especies							EEM
	EG ¹	CHIC	ER	MEZ	HUI	MOR	STE	
PC	9.2c	12.7b	9.1c	15.4ab	17.1a	15.0ab	8.0c	0.30
EE	1.4d	1.6c	0.7e	3.0a	3.0a	2.1b	0.5f	0.02
Ceniza	7.4c	11.7b	4.3d	5.5cd	7.7c	21.4a	6.9cd	0.29
CNE	23.3b	51.4a	25.5b	26.8b	22.0b	14.1c	52.9a	0.72
FDN	58.6a	22.5d	60.4a	49.3b	50.3b	47.4b	31.2c	0.51
FDA	23.7cd	16.9d	27.2bc	39.4a	40.3a	31.1b	23.4bc	0.67
LIG	4.2b	0.9c	5.0b	9.2a	10.4a	3.8b	5.5b	0.26
CEL	19.2bc	16.0cd	22.1b	29.2a	29.1a	23.1b	12.9d	0.51
HEM	35.2a	5.6f	33.2ab	23.1c	15.5d	31.6b	8.7e	0.30
EM	12.5ab	8.3c	12.5ab	14.6a	10.0bc	13.8ab	14.2a	0.41
TC	0.8d	0.8d	1.1b	1.0bc	1.5a	0.6e	0.9cd	0.02
CFT	4.3c	1.9e	9.2a	2.9d	8.0b	1.7a	9.8a	0.06
DIVMS	45.6d	82.1a	39.0e	52.1c	38.2e	78.0a	73.2b	0.44

¹Medias con diferentes literales en la misma hilera son estadísticamente (Tukey, $p < 0.05$); EG=Encino gris; CHIC= chicalote; ER= Encino rojo; MEZ= mezquite; HUI= huizache; MOR= morera; STE= estevia; EEM= error estándar de la diferencia entre las medias; PC= proteína cruda; EE= extracto etéreo; CNE= carbohidratos no estructurales; FDN= fibra detergente neutro; FDA= fibra detergente ácido; LIG= lignina; CEL= celulosa; HEM= hemicelulosa; EM= energía metabolizable (MJ/kg MS); TC= taninos condensados; CFT= compuestos fenólicos totales; DIVMS= digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

Tabla 3. Producción de metano *in vitro*, dióxido de carbono y parámetros de la cinética de producción de gas de las especies vegetales propuestas.

Parámetro	Especies							EEM
	EG	CHIC	ER	MEZ	HUI	MOR	STE	
A (mL/g MS)	46.9b	99a	37.9c	27.8d	18.6e	42.5bc	27.8d	0.62
L (h)	2.3b	3.6a	2.1b	3.7a	3.7a	2.3b	3.7a	0.07
k_d (%/h)	0.11c	0.19ab	0.12bc	0.22a	0.21a	0.11c	0.22a	0.01
GP ₂₄ (mL/g MS)	37.9b	87.3a	30.1c	17.1d	28.1c	30.1c	30.1c	0.52
CH ₄ (mL/g MS)	3.2b	7.1a	1.4e	0.8f	0.9ef	1.9d	2.5c	0.04
CO ₂ (mL/g MS)	29.3b	67.8a	18.1d	11.0e	22.1cd	20.5cd	23.8bc	0.22
CO ₂ :CH ₄ relación	9.3c	13.4b	9.6c	13.2b	24.1a	10.4c	9.7c	0.28

*Medias con diferente letra en la misma hilera son estadísticamente (Tukey, $p < 0.05$); A= Máxima producción de gas; L= tiempo de latencia antes de iniciar la producción de gas (h); k_d = tasa constante de producción de gas (h^{-1}); GP₂₄: producción de gas a las 24h de fermentación; EG= encino gris; CHIC= chicalote; ER= encino rojo; MEZ= mezquite; HUI= huizache; MOR= morera; STE= estevia; EEM= error estándar de la diferencia entre medias.

Parámetros de fermentación *in vitro*. La Tabla 4 presenta los parámetros de fermentación ruminal obtenidos con la incubación de las especies vegetales. Como se puede observar, hay diferencias en el N-amoniaco entre las especies vegetales ($p < 0.05$); el MEZ y la MOR presentaron las mayores concentraciones que las otras especies (13.1 and 12.8 mg/dL, respectivamente). Estas especies también registraron el contenido más alto de PC, lo cual sugiere que más proteína es degradada y esto favorece la síntesis de proteína microbiana.

Con respecto a los ácidos grasos volátiles (AGV's), la producción individual de cada AGV presentó cambios entre las especies ($p < 0.05$). Sin embargo, no hubo diferencias en los ácidos grasos volátiles totales (AGVT) ($p > 0.05$). En este sentido, EG y HUI las concentraciones más bajas de acetato entre las especies. También HUI presentó la concentración más alta de propionato ($p < 0.05$). Por otro lado, cuando se observa una reducción en el acetato, se espera un incremento en el propionato.

Tabla 4. Parámetros de fermentación ruminal *in vitro* de las especies vegetales evaluadas.

Parámetro	Especies							EEM
	EG	CHIC	ER	MEZ	HUI	MOR	STE	
N-NH ₃ (mg/dL)	4.3e	7.9b	6.7bc	13.1a	5.9cd	12.8a	5.2de	0.19
AGVT (mM)	0.05a	0.07a	0.07a	0.07a	0.05a	0.07a	0.06a	0.01
Concentración AGV (mmol/100 mmol AGVT)								
Acetato	68.4bc	70.9ab	74.2a	75.6a	65.3c	75.9a	72.1ab	0.60
Propionato	16.2ab	16.2ab	13.8b	14.3b	18.6a	14.7b	14.8b	0.28
Butirato	6.2ab	5.8abc	5.3abc	4.2c	6.6a	4.4bc	5.9abc	0.21

*Medias con letra diferente en la misma hilera son estadísticamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$); EG= encino gris; CHIC= chicalote; ER= encino rojo; MEZ= mezquite; HUI= huizache; MOR= morera; STE= estevia; EEM= error estándar de la diferencia entre las medias; N-NH₃= nitrógeno amoniacal; AGVT: ácidos grasos volátiles.

DISCUSIÓN

Composición química. Investigaciones previas han mostrado contenidos similares de PC. De hecho, un contenido de 13% de PC considera a un heno de alfalfa de mediana calidad; sin embargo, hay algunos forrajes de mala calidad que se encuentran en el rango de 8-12% de PC lo cual está asociado con la madurez del forraje (20). De acuerdo con Fox et al (21), el contenido de grasa contenido en el EE juega un papel muy importante en el suministro de energía de los rumiantes. A pesar de que dos de las especies vegetales propuestas en este estudio mostraron mayores contenidos de EE, este contenido puede recalcularse cuando los alimentos sean mezclados en las raciones proporcionadas al ganado, ya que valores mayores al 7% pueden ser tóxicos para los microorganismos ruminales lo cual puede comprometer la fermentación ruminal (22). Alto contenido de ceniza en los alimentos permite una disminución de la fermentación ruminal de la materia orgánica; además, altos contenidos de ceniza y energía metabolizable están correlacionados negativamente (23). Sin embargo, los contenidos de ceniza en las especies vegetales analizadas en este estudio están de acuerdo con investigaciones previas (24).

Producción de gas *in vitro*. Casi todas las especies vegetales propuestas produjeron gas comparable con forrajes de mediana y alta calidad. Ivan et al (25) mencionaron que el grado de degradación depende de la estructura y tipo de carbohidratos contenidos en cada especie. Con respecto a lo anterior, CHIC y STE presentaron los contenidos más altos de CNE y los más bajos de FDN. Además, Han & McCormick (26) reportaron una máxima producción de gas de 96.3 (mL/g MS) cuando incubaron solamente heno de alfalfa. Por otro lado, el contenido

de lignina en el HUI es el mayor (10.4%) lo cual permite un incremento en los complejos lignocelulolíticos; estos complejos afectan la producción de gas a través de la reducción en la digestibilidad (27). Igualmente, HUI registró el más alto contenido de TC (1.5%); los TC tienden a formar complejos con las proteínas las cuales pueden afectar la producción de gas (3). Comportamiento similar es observado con mezquite (MEZ) el cual presenta igual concentración que el HUI; el contenido de TC en el mezquite es menor que el obtenido en el HUI. Probablemente, estos complejos afectaron la máxima producción de gas como se explicó anteriormente. De hecho, la menor DIVMS se detectó en el HUI y MEZ; este hecho soporta la teoría de que la DIVMS es afectada debido a la presencia de lignina y TC.

A pesar de que se observó una concentración alta en la DIVMS y en los CNE en la STE, esta especie registró valores bajos de producción de gas. Sarnataro & Spanghero (28) reportaron una disminución en los protozoarios cuando se administró extractos de estevia en incubaciones ruminales. Respecto a esto, investigaciones previas reportaron que la defaunación de los protozoarios afecta la fermentación (29).

Tavendale et al (3) afirmaron que los TC tienden a formar complejos con las proteínas y con ciertos metanógenos pueden bloquear la ruta de la síntesis de metano. De acuerdo con esto, si el metano no se produce por lo anterior, entonces la síntesis de propionato se vería favorecida ya que la síntesis de ambos compuestos (metano y propionato) son receptores naturales de los protones libres (H⁺) contenidos en el rumen.

La relación CO₂:CH₄ representa el volumen (mL) de CO₂ que queda por cada mL de metano

producido; cuanto mayor sea el valor de esta variable, menor será la producción de metano a través de la vía de reducción de CO_2 . A pesar de esto las producciones individuales de CO_2 y metano para cada especie, valores altos en la relación $\text{CO}_2:\text{CH}_4$ sugiere una reducción en la producción de metano comparada con la producción de CO_2 . Por lo tanto, lo anterior puede indicar una disminución en la síntesis de metano a través de la vía de reducción de CO_2 . Además, es deseable que las especies vegetales presenten valores bajos en esta relación. Por otro lado, especies como EG, ER y HUI presentaron valores bajos de esta relación como consecuencia de los valores bajos obtenidos en la producción de gas por lo cual pueden considerarse como forrajes de baja calidad como se discutió anteriormente en este estudio.

Deutschmann et al (30) reportaron valores más bajos de producción de gas a las 24h de fermentación en pasto pangola (aproximadamente 10 mL/g MS) que el volumen obtenido en el presente estudio con las especies vegetales propuestas. Estos mismos autores alimentaron búfalos con pasto pangola como parte de la ración y obtuvieron ganancias diarias de peso (GDP) de 0.45 kg/día. Esto último sugiere que la utilización de las especies vegetales propuestas en este estudio puede promover una GDP superior a las reportadas por Deutschmann et al (30).

Parámetros de fermentación *in vitro*.

Las proteínas son degradadas a péptidos, aminoácidos y NH_3 ; este último es la principal fuente de nitrógeno usada por los microorganismos para formar proteína microbiana (31). Cheeke (32) mencionó que la concentración ideal de nitrógeno amoniacal en el rumen debería estar en el rango de 5-24 mg/dL. De igual manera, Lunsin et al (33) soporta esta aseveración reportando un rango de 5 a 8 mg/dL como el mínimo requerido para un crecimiento óptimo de los microorganismos, lo cual puede promover una adecuada degradación de los alimentos. De acuerdo con Pond et al (34), los valores de N-amoniaco dependen directamente de la energía disponible. En cuanto a esto, solo el EG presentó concentraciones más bajas de N-amoniaco que las que necesitan los microbios para su óptimo crecimiento. Sin embargo, el forraje es justo otro ingrediente de la ración ofrecida a los bovinos. Además, Abdulla et al (35) afirmaron que las diferencias en el N-amoniaco están

directamente correlacionadas a los cambios en los procesos dinámicos y microbianos como también la tasa de crecimiento de la urea en el rumen. Investigaciones previas reportaron que un mayor contenido de proteína degradable ruminal está directamente relacionada con mayor contenido de acetato (36); los datos obtenidos en este estudio están de acuerdo con estos autores.

Si la fermentación está enfocada en la producción de propionato se podría esperar una reducción en la producción de metano y gases (37). La fermentación de un sustrato a propionato es una reacción productora de gas debida a la neutralización del ácido; por lo que una baja producción de gas está asociada con una fermentación propiónica (38). En este sentido, los resultados obtenidos para el HUI son consistentes con lo anterior. Almaraz-Buendia et al (39) registraron proporciones similares de acetato, propionato y butirato (65, 21 y 5%, respectivamente).

En conclusión, este estudio propone el uso de diferentes especies vegetales como posibles fuentes de forraje en la alimentación de rumiantes. De acuerdo con la composición química, los forrajes CHIC, MOR y STE presentaron la mejor calidad nutricional debido a los altos contenidos de proteína y a una adecuada digestibilidad. Sin embargo, CHIC también presentó valores óptimos en los parámetros de producción de gas, mismos que son comparables con un forraje de uso común como el heno de alfalfa. Además, el alto valor de CHIC en la relación $\text{CO}_2:\text{CH}_4$ indica una mejora en los parámetros de fermentación cuando son comparados con los de las otras especies. Estos hallazgos sugieren que el uso de CHIC no afecta las características nutricionales de la ración en la alimentación de rumiantes a pesar del contenido de taninos condensados propio de la especie. De esta manera, se sugiere que el uso de CHIC sea como parte de la fracción forrajera en una ración y no como única fuente de alimentación. Por otro lado, las otras especies pudieran ser empleadas como aditivos o suplementos alimenticios en la alimentación de rumiantes; no obstante, la digestibilidad de la ración pudiera ser afectada.

Conflicto de intereses

Certificamos que no existe conflicto de intereses con ninguna organización financiera con respecto al material discutido en el manuscrito.

REFERENCIAS

1. Singh B, Todaria NP. Nutrients composition changes in leaves of *Quercus semecarpifolia* at different seasons and altitudes. Ann For Res. 2012; 55(2):189-196. <http://afrjournal.org/index.php/afr/article/view/59>
2. Pavarini D, Pavarini S, Niehues M, Lopes N. Exogenous influences on plant secondary metabolite levels. Anim Feed Sci Technol. 2012; 176:5-16. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.002>
3. Tavendale MH, Meagher LP, Pacheco D, Walker N, Attwood GT, Sivakumaran S. Methane production from *in vitro* rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. Anim Feed Sci Technol. 2005; 123(124):403-419. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.037>
4. Knapp JR, Laur GL, Vadas PA, Weiss WP and Tricarico JM. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing. J Dairy Sci. 2014; 97:3231-3261. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7234>
5. Rocha-Guzmán NE, Gallegos-Infante JA, González-Laredo RF, Reynoso-Camacho R, Ramos-Gómez M, García-Gasca T. Antioxidant activity and genotoxic effect on HeLa cells of phenolic compounds from infusions of *Quercus resinosa* leaves. Food Chem. 2009; 115:1320-1325. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.050>
6. Abdel SE, Maes L, Mahmoud SM. *In vitro* activities of plant extracts from Saudi Arabia against malaria, leishmaniasis, sleeping sickness and chagas disease. Phytother Res. 2010; 24:1322-1328. <https://doi.org/10.1002/ptr.3108>
7. Sytar O, Borankulova A, Shevchenko Y, Wendt A, Smetanska I. Antioxidant activity and phenolics composition in *Stevia rebaudiana* plants of different origin. J Microbiol Biotechnol Food Sci. 2016; 5(3):221-224. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2015.16.5.3.221-224>
8. Molina CM, Priego CF, de Luque CMD. Characterization of stevia leaves by LC-QTOF MS/MS analysis of polar and non-polar extracts. Food Chem. 2017; 219(6):329-338. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.148>
9. González N, Abdalla AL, Galindo J y Santos MR. Effect of five inclusion levels of mulberry (*Morus alba* cv. Cubana) on methanogens and some main cellulolytic populations within rumen liquor of water buffalos (*Bubalus bubalis*). Cuban J Agricul Sci. 2016; 50(3):393-402. <https://www.cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/633>
10. Armijo-Nájera MG, Moreno-Reséndez A Blanco-Contreras E, Borroel-García VJ, Reyes-Carrillo JL. Vaina de mezquite (*Prosopis spp.*) alimento para el ganado caprino en el semidesierto. Rev Mex Cie Agric. 2019; 10(1):113-122. <https://dx.doi.org/10.29312/remexca.v10i1.1728>
11. AOAC International. Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Methods of Analysis. AOAC, Arlington, Va, USA; 2005.
12. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J Dairy Sci. 1991; 74:3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
13. Menke KH and Steingass H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Anim Res and Develop. 1988; 28(1):7-55.
14. Heimler D, Isolani L, Vignolini P, Tombelli S, Romani A. Polyphenol content and antioxidative activity in some species of freshly consumed salads. J Agric Food Chem. 2007; 55:1724-1729. <https://doi.org/10.1021/jf0628983>

15. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic.* 1965; 16:144-158. <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>
16. Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB, France J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim Feed Sci Technol.* 1994; 48:185-197. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90171-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6)
17. Murillo OM, Herrera TE, Corral LA, Pámanes CG. Effect of inclusion of graded level of water hyacinth on *in vitro* gas production kinetics and chemical composition of alfalfa hay based beef cattle diets. *Indian J Animal Res.* 2018; 52(8):1298-1303. <https://doi.org/10.18805/ijar.11417>
18. Mills JA, Kebreab E, Yates CM, Cromton LA, Cammell SB, Dhanoa MS, Agnew RE, France J. Alternative approaches to predicting methane emissions from dairy cattle. *J Anim Sci.* 2003; 81:3141-3150. <https://doi.org/10.2527/2003.81123141x>
19. Galyean ML. *Laboratory Procedures in Animal Nutrition Research.* 13th ed. Lubbock: USA; 2010. https://www.depts.ttu.edu/afs/home/mgalyean/lab_man.pdf
20. Abera M, Steingass H, Shollenberger M and Rodehutsord M. Screening of common tropical grass and megume forages in Ethiopia for their nutrient composition and methane production profile *in vitro*. *Trop Grasslands.* 2017; 5(3):163-175. [http://dx.doi.org/10.17138/TGFT\(5\)163-175](http://dx.doi.org/10.17138/TGFT(5)163-175)
21. Fox DG, Tedeschi LO, Tylutki TP, Russell JB, Van Amburgh ME, Chase LE, Pell A N, Overton TR. The cornell net carbohydrate and protein system model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. *Anim Feed Sci Technol.* 2004; 112:29-78. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2003.10.006>
22. Arenas FA, Noguera RR, Restrepo LF. Efecto de diferentes tipos de grasa en dietas para rumiantes sobre la cinética de degradación y fermentación de la materia seca *in vitro*. *Rev Col Cien Pec.* 2010; 23(1):55-64. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/rccp/article/view/324530>
23. Li JT, Li DF, Zang JJ, Yan WJ, Zhang WJ and Zhang LY. Evaluation of energy digestibility and prediction of digestible and metabolizable energy from chemical composition of different cottonseed meal sources fed to growing pigs. 2012; 25(10):1430-1438. <https://dx.doi.org/10.5713%2Fajas.2012.12201>
24. Hurtado DI, Nocua S, Nárvaez-Solarte W y Vargas-Sánchez JE. Valor nutricional de la morera (*Morus sp.*), matarratón (*Gliricidia sepium*), pasto indio (*Panicum máximum*) y arboloco (*Montanoa quadrangularis*) en la alimentación de cuyes (*Cavia porcellus*). *Vet Zootec.* 2012; 6(1):56-65. <http://vip.ucaldas.edu.co/vetzootec/downloads/v6n1a06.pdf>
25. Ivan SK, Grant RJ, Weakley D, Beck J. Comparison of a corn silage hybrid with high cell wall content and digestibility with a hybrid of lower cell-wall content on performance of Holstein cows. *J Dairy Sci.* 2005; 88:244. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(05\)72682-5](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(05)72682-5)
26. Han KJ, McCormick ME. Evaluation of nutritive value and *in vitro* rumen fermentation gas accumulation of de-oiled algal residues. *J Anim Sci and Biotechnol.* 2014; 5(1):31. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-5-31>
27. Akanmu AM, Hassen A and Adejoro FA. Gas production, digestibility and efficacy of stored or fresh plant extracts to reduce methane production on different substrates. *Animals.* 2020; 10:146. <https://doi.org/10.3390/ani10010146>
28. Sarnataro Ch, Spanghero M. *In vitro* rumen fermentation of feed substrates added with chestnut tannins or an extract from *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Anim Nutr.* 2020; 6:54-60. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2019.11.009>
29. Qin WZ, Li CY, Kim JK, Ju JG, Song MK. Effects of defaunation on fermentation characteristics and methane production by rumen microbes *in vitro* when incubated with starchy feed sources. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2012; 25(10):1381-1388. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.1224>

30. Deutschmann K, Phatsara Ch, Sorachakula Ch, Vearasilp T, Phunphiphat W, Cherdthong A, Gerlach K, Karl-Heinz S. *In vitro* gas production and *in vivo* nutrient digestibility and growth performance of Thai indigenous cattle fed fresh and conserved pangola grass. *Italian J Anim Sci*. 2017; 16:1-9. <https://doi.org/10.1080/1828051x.2017.1293478>
31. Wang P and Zhiliang T. Ammonia assimilation in rumen bacteria: A review. *Anim Biotechnol*. 2013; 24(2):107-128. <https://doi.org/10.1080/10495398.2012.756402>
32. Cheeke PR. *Applied Animal Nutrition, Feeds and Feeding*. 3rd ed. New Jersey, Prentice Hall; 2004.
33. Lunsin R, Wanapat M, Rowlinson P. Effect of cassava hay and rice bran oil supplementation on rumen fermentation, milk yield and milk composition in lactating dairy cows. *Asian-Australas J Anim Sci*. 2012; 25:1364-1373. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12051>
34. Pond WG, Church DC, Pond K, Schoknecht PA. *Basic Animal Nutrition and Feeding*. 5th ed. Wiley; 2005
35. Abdullah N, Ho YW, Mahyuddin M, Jalaludin S. Microbial colonization and digestion of feed materials in cattle and buffaloes II. Rice straw and palm press fibre. *Asian-Aust J Anim Sci*. 1992; 5:329-335. <http://www.ajas.info/Editor/manuscript/upload/5-47.pdf>
36. Griswold KE, Apgar GA, Bouton J, Firkins JL. Effects of urea infusion and ruminal degradable protein concentration on microbial growth, digestibility, and fermentation in continuous culture. *J Anim Sci*. 2003; 81:329-336. <https://doi.org/10.2527/2003.811329x>
37. Williams BA. Cumulative gas-production techniques for forage evaluation. In: Givens D I, Owen E, Omed H M and Axford R F E (editors). *Forage evaluation in ruminant nutrition*. Wallingford (UK). CAB International; 2000.
38. Alves BG, Martins CMMR, Peti APF, Moraes LAB and Santos MV. *In vitro* evaluation of novel crude extracts produced by actinobacteria for modulation of ruminal fermentation. *R Bras Zootec*. 2019; 48: e20190066. <https://doi.org/10.1590/rbz4820190066>
39. Almaraz-Buendía I, García AM, Sánchez-Santillán P, Torres-Salado N, Herrera-Pérez. Análisis bromatológico y producción de gas *in vitro* de forrajes utilizados en el trópico seco mexicano. *Arch Zootec*. 2019; 68(262):260-266. <https://doi.org/10.21071/az.v68i262.4145>