

Efecto de la incorporación de arbóreas a dietas de *Cynodon nlemfuensis* durante la fermentación ruminal *in vitro*

Effect of incorporating arboreal vegetation to *Cynodon nlemfuensis* diets during *in-vitro* ruminal fermentation

Narciso Ysac Avila-Serrano¹ , Serafín Jacobo López-Garrido^{1,‡} ,
Mónica Marcela Galicia-Jiménez² , Guillermo de Jesús González-Crespo¹  y
Marco Antonio Camacho-Escobar³ 

¹ Posgrado en Producción y Sanidad Animal, ² Instituto de Genética, ³ Cuerpo Académico Ciencias Agropecuarias, Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido. Carretera Vía Sola de Vega km 1.5, Puerto Escondido. 71980 San Pedro Mixtepec, Oaxaca, México.

‡ Autor para correspondencia (serafin@zicatela.umar.mx)

RESUMEN

Las gramíneas no satisfacen las necesidades de los rumiantes en el trópico y su marcada producción estacional provocan desventajas en la producción animal, además los altos niveles de fibras y bajo contenido de proteína tienen como consecuencia una mayor producción de gases de efecto invernadero (GEI). Por esta razón se busca complementar la dieta al adicionar diferentes niveles de follaje de arbóreas tropicales. El objetivo fue evaluar el efecto de la incorporación de 15, 30 y 45% de *Moringa oleifera*, *Leucaena leucocephala* y *Guazuma ulmifolia* en una dieta a base de pasto *Cynodon nlemfuensis* durante la fermentación ruminal *in vitro*. Metodología: a diez tratamientos con diferente porcentaje de inclusión de tres arbóreas diferentes se le determinó la composición química, la degradación *in vitro* de la materia seca (DIVMS), el pH, la concentración de ácidos grasos volátiles (AGVs), la producción de biogás y la emisión de metano (CH₄) y dióxidos de carbono (CO₂). Para el análisis de los datos se usó un diseño completamente al azar. La composición química de las dietas mostró diferencias ($P < 0.05$) al adicionar gradualmente follaje de arbóreas a la dieta, la DIVMS fue diferente ($P < 0.05$), el pH de los tratamientos no mostró diferencias ($P > 0.05$), la concentración de AGVs fue diferente ($P < 0.05$), la dieta con 45% de *Moringa oleifera* presentó las mejores concentraciones

de AGVs, sin embargo, la producción de biogás total y las concentraciones de CH₄ y CO₂ fueron menores ($P < 0.05$) en la dieta con 45% de *Leucaena leucocephala*. En conclusión, la adición de 45% de *Leucaena leucocephala* a la dieta, mejoró la composición química, sin cambios en la concentración de AGVs y redujo la producción de CH₄ y CO₂ en 18 y 24%, respectivamente.

Palabras clave: emisiones CH₄ y CO₂, *G. ulmifolia*, *L. leucocephala*, *M. oleifera*.

SUMMARY

Gramineae do not meet the needs of ruminants in the tropics, and their marked seasonal production causes disadvantages in animal production; in addition, high fiber levels and low protein content result in a higher production of greenhouse gases (GHG). For this reason, this study intended to supplement the diet by adding different foliage levels of tropical trees with the objective of evaluating the effect of incorporating 15, 30, and 45% of *Moringa oleifera*, *Leucaena leucocephala* or *Guazuma ulmifolia* on a diet based on *Cynodon nlemfuensis* grass during ruminal fermentation *in vitro*. The methodology consisted of ten treatments with different inclusion percentages of three different trees; the chemical composition, *in vitro* ruminal fermentation, dry matter degradation

Cita recomendada:

Avila-Serrano, N. Y., S. J. López-Garrido, M. M. Galicia-Jiménez, G. J. González-Crespo y M. A. Camacho-Escobar. 2020. Efecto de la incorporación de arbóreas a dietas de *Cynodon nlemfuensis* durante la fermentación ruminal *in vitro*. Terra Latinoamericana Número Especial 38-2: 403-412.

DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.618>

Recibido: 07 de agosto de 2019.

Aceptado: 27 de marzo de 2020.

Publicado en Terra Latinoamericana 38: 403-412.

(IVDMD), pH, volatile fatty acid concentration (VFAs), biogas production and emission of methane (CH₄) and carbon dioxide (CO₂) were determined. Data were analyzed through a completely randomized design. The chemical composition of the diets showed differences ($P < 0.05$) when tree foliage was added gradually to the diet; the IVDMD was different ($P < 0.05$); pH of the treatments showed no differences ($P > 0.05$); VFA concentration was different ($P < 0.05$), the diet with 45% of *Moringa oleifera* had the best VFA concentration; however, the total biogas production and CH₄ and CO₂ concentrations were lower ($P < 0.05$) in the diet with 45% *Leucaena leucocephala*. In conclusion, the addition of 45% of *Leucaena leucocephala* to the diet improved chemical composition without affecting the VFA concentration and producing less CH₄ and CO₂ (18 and 24%, respectively).

Index words: emissions CH₄ and CO₂, *G. ulmifolia*, *L. leucocephala*, *M. oleifera*.

INTRODUCCIÓN

La producción de rumiantes en el trópico se basa en el pastoreo de gramíneas nativas o introducidas, estos pastos se caracterizan por aportar menos de 10% de proteína y más de 40% de fibra (Carmona, 2007), presentan baja digestibilidad y tienen menos de seis por ciento de carbohidratos solubles (Gaviria *et al.*, 2015). Los pastos tropicales presentan buen rendimiento de biomasa (Rojas *et al.*, 2017) sin embargo, en el trópico la producción es afectada por la época de sequía y de lluvias. Durante la época lluviosa los pastos presentan mayor altura, aumenta la producción de biomasa por una mayor tasa de crecimiento (Muñoz *et al.*, 2016). La época de estiaje afecta la disponibilidad y la calidad nutritiva del forraje, por ello la producción es estacional (Jarillo *et al.*, 2011). Uno de los pastos más utilizados en el trópico es el *Cynodon nlemfuensis*, Laredo (1985) reportó que contiene menos de 11% de proteína cruda (PC), una DIVMS de 60%, un contenido de fibra insoluble en detergente neutro (FIDN) de 70%, fibra insoluble en detergente ácido (FIDA) de 40% y 2.3 Mcal kg⁻¹ de energía metabolizable (EM). Debido a la limitada calidad nutritiva de esta gramínea, es

necesario buscar alternativas para mejorar la dieta de los rumiantes. Una alternativa, es la suplementación de los pastos con arbóreas forrajeras para incrementar el porcentaje de proteína a la dieta (Manotoa, 2016¹; Cardona *et al.*, 2016). Las arbóreas tienen más de 20% de PC y sus niveles de fibra son menores a 40% (Carmona, 2007; Vélez *et al.*, 2015). Dentro de las arbóreas más estudiadas se encuentra la *Moringa oleifera*, *Leucaena leucocephala* y *Guazuma ulmifolia*. La *Moringa oleifera* contiene 16% de proteína, menos de 45% de FIDN y FIDA y una DIVMS superior a 60% (García *et al.*, 2006; Cuartas *et al.*, 2015). La *Leucaena leucocephala* contiene 26% de proteína, menos de 46% de FIDN y FIDA, una DIVMS superior a 50% (Cordoví *et al.*, 2013; Gutiérrez *et al.*, 2018). La *Guazuma ulmifolia* contiene 12% de proteína, 60% de FIDN y menos de 40% de FIDA, una DIVMS mayor a 45% (Mojica *et al.*, 2017; Hernández-Morales *et al.*, 2018). Las arbóreas son una fuente de forraje y rebrotes continuos durante la época de sequía (Gutiérrez *et al.*, 2018). Las arbóreas presentan compuestos químicos que pueden limitar su valor nutricional. Padma y Sumathi (1993) reportan que una gran cantidad de leguminosas arbóreas y arbustivas del trópico contienen metabolitos secundarios como taninos, saponinas, alcaloides, terpenos, fitatos, hemoglutininas, aminoácidos tóxicos como canavanina y mimosina, glucósidos cianogénicos, cumarina y flavonol. El consumo en exceso de estos compuestos puede afectar la utilización de los nutrientes, la conversión alimenticia, la fermentación ruminal y la salud de los animales (Aregheore, 1999; Torres *et al.*, 2008). Los metabolitos secundarios además pueden afectar a los microorganismos ruminales y la fermentación (Carmona, 2007; Escobar, 2009²). Los metabolitos secundarios también han tenido efecto contra larvas y garrapatas adultas (Rosado *et al.*, 2010). El follaje de las arbóreas puede tener un efecto nutracéutico en los animales (Hoste *et al.*, 2015). Los metabolitos presentes en *Leucaena* (Verdecia, *et al.*, 2012), *M. oleifera* (Velázquez *et al.*, 2016; Cabrera *et al.*, 2017) y *G. ulmifolia* (Pinto *et al.*, 2009; Luna y González, 2017) también pueden ayudar a reducir las emisiones de metano. El uso de arbustivas y arbóreas en la alimentación de rumiantes es una buena alternativa para incrementar la digestibilidad, mejorar

¹ Manotoa-Chicaiza, S. P. 2016. Capacidad de defaunación ruminal y mitigación de gases de efecto invernadero: efecto de leguminosas forrajeras arbóreas y arbustivas. Tesis de Maestría en Agroecología y Ambiente. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador.

² Escobar M., G. 2009. Incidencia de metabolitos secundarios presentes en las leguminosas en sistemas silvopastoriles en caprinos. Monografía. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Escuela de Ciencias Pecuarias y del Medio Ambiente. Bogotá, D.C.

el balance de energía y proteína de la dieta, así como reducir las emisiones de CH₄ en rumen (Manotoa, 2016¹; Cardona *et al.*, 2016). Los metabolitos con propiedades antimetanogénicas son saponinas, taninos, aceites esenciales, compuestos órganosulfurados y flavonoides (Patra y Saxena, 2010). La reducción de la metanogénesis también puede ocurrir mediante efecto indirecto al reducir la población de protozoarios e inhibir la actividad de las *arqueas metanogénicas* (Bodas *et al.*, 2012; Vélez *et al.*, 2014). Ribeiro *et al.* (2015) reportan que la actividad ganadera en los últimos años ha sido cuestionada por generar altos niveles de metano por el consumo de pastos de baja calidad nutricional (Ribeiro *et al.*, 2015). Durante la fermentación de los pastos por los microorganismos ruminales, se generan una mayor concentración de acetato que libera H₂ y CO₂ que son los sustratos para formar CH₄ por las *arqueas metanogénicas*. Este gas representa una pérdida del 7 al 12% de la energía bruta consumida por el animal (Vélez *et al.*, 2015). La producción de CH₄ depende de la composición de la dieta, la digestibilidad, procesamiento del alimento y frecuencia de alimentación (Manotoa, 2016¹). El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la incorporación de 15, 30 y 45% de *Moringa oleifera*, *Leucaena leucocephala* y *Guazuma ulmifolia* en una dieta a base de pasto *Cynodon nlemfuensis* durante la fermentación ruminal *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el Laboratorio de Bioquímica y Nutrición de la Universidad del Mar Campus Puerto Escondido, ubicado en el Campo Experimental de Bajos de Chila, localizado en el kilómetro 128.1 de la carretera Federal Pinotepa Nacional-Puerto Escondido, cuyas coordenadas son 15° 55' 33.4" N y 97° 09' 01.9" O y una altitud de 12 m. El pasto *Cynodon nlemfuensis* se cosechó a los 27 días de rebrote, en una parcela experimental establecida en San José Manialtepec, Tututepec, Juquila, Oaxaca con coordenadas 15° 56' 59.1" N y 97° 14' 18.3" O y una altitud de 17 m. En los meses de junio y julio del año 2018. El follaje de las arbóreas *M. oleifera*, *L. leucocephala* y *G. ulmifolia* se recolectó en los meses de junio y julio del año 2018, en Rio Grande, Tututepec, Juquila, Oaxaca con coordenadas 16° 00' 31.3" N y 97° 27' 06.8" O y a una altitud de 24 m. El material vegetal recolectado fue secado a 65 °C

en una estufa (FELISA. México) por 72 h, y molido con malla de 1 mm en un molino Wylley (Arthur H. Tomas, Philadelphia, PA, U.S.A.). Se elaboraron 10 dietas compuestas de la siguiente manera: Cn-100: 100% *Cynodon nlemfuensis*, Mo-15: 85% *Cynodon nlemfuensis* + 15% *Moringa oleifera*, Mo-30: 70% *Cynodon nlemfuensis* + 30% *Moringa oleifera*, Mo-45: 55% *Cynodon nlemfuensis* + 45% *Moringa oleifera*, Ll-15: 85% *Cynodon nlemfuensis* + 15% *Leucaena leucocephala*, Ll-30: 70% *Cynodon nlemfuensis* + 30% *Leucaena leucocephala*, Ll-45: 55% *Cynodon nlemfuensis* + 45% *Leucaena leucocephala*, Gu-15: 85% *Cynodon nlemfuensis* + 15% *Guazuma ulmifolia*, Gu-30: 70% *Cynodon nlemfuensis* + 30% *Guazuma ulmifolia* y Gu-45: 55% *Cynodon nlemfuensis* + 45% *Guazuma ulmifolia*. La composición química de las dietas fue determinada por los métodos de la AOAC (2005): cenizas (método 942.05) y proteína cruda (PC) (método 984.13). El contenido de fibra insoluble en detergente neutro (FIDN), fibra insoluble en detergente acido (FIDA) y hemicelulosa se determinaron por el método propuesto por Van-Soest *et al.* (1991). La fuente de inóculo se obtuvo de una vaca Cebú × Pardo suizo, canulada en el rumen, estabulada, alimentada con 70% forraje, 30% de concentrado y agua a libre acceso. El líquido ruminal fue extraído por la mañana, filtrado en gasas a cuatro capas y transportado en un termo cerrado herméticamente al laboratorio hasta su posterior uso. Para determinar la degradación *in vitro* de la materia seca (DIVMS), la concentración de AGV y pH se utilizaron viales serológicos de vidrio con capacidad de 100 mL como biofermentadores. Fueron agregadas muestras de 0.5 g de MS de cada dieta con 45 mL de medio de cultivo para bacterias totales a base de glucosa, celobiosa, almidón y fluido ruminal clarificado (GCA-FR) preparado de acuerdo a Cobos y Yokoyama (1995). Los viales se mantuvieron en condiciones de anaerobiosis con CO₂, y se sellaron herméticamente con tapones de goma y arillos de aluminio, cada biofermentador se consideró una unidad experimental. El biogás se capturó en trampas de solución salina saturada, preparada de acuerdo a Cobos *et al.* (2018). Los biofermentadores se incubaron en baño María a 39 °C, se inocularon con 5 mL de líquido ruminal fresco centrifugado a 10000 rpm durante 15 minutos. Las trampas de biogás fueron conectadas con el biofermentador por medio de una manguera de Tygon® con un diámetro interior de 3/32". La manguera fue adaptada con dos agujas de jeringa

de calibre 20Gx1” en cada extremo, a las trampas se les colocó una aguja como válvula de alivio. Las trampas se colocaron en forma invertida en una probeta de plástico. La producción de biogás se cuantificó midiendo el desplazamiento del líquido de las trampas en la probeta. Para medir la cantidad de CH₄ y CO₂ se tomó una muestra de 50 µL de las trampas (Cobos *et al.*, 2018).

Evaluación de las Variables de Fermentación Ruminal

Las concentraciones de CH₄ y CO₂ se determinaron en un cromatógrafo de gases (Perkin-Elmer®, U.S.A.) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna empacada Poropark. Las condiciones de detección fueron: temperatura de horno 80 °C, columna empacada 170 °C y detector de conductividad térmica 130 °C; los tiempos de retención 0.71 min para CH₄ y 1.05 min para CO₂, el gas acarreador fue helio con un flujo de 23 mL m⁻¹. Los AGVs se determinaron en un cromatógrafo de gases (Perkin-Elmer®) con un detector de ionización con flama. Las condiciones de trabajo fueron: temperatura del horno 130 °C, y del inyector y la columna capilar (15 × 0.32 m) 250 °C; los tiempos de retención fueron 1.26 min para acetato, 1.6 min para propionato y 2.09 min para butirato (Cobos *et al.*, 2018). Para medir la concentración molar de los AGVs se tomaron muestras de los biofermentadores a las 72 h de incubación en viales Eppendorf® de 2 mL, con ácido metafosfórico al 25% en una proporción de 4:1 y se congelaron a 4 °C (Cobos *et al.*, 2018). El pH se midió directamente de los biofermentadores a las 72 h de incubación (Lana *et al.*, 1998) con un potenciómetro (HANNA, modelo HI2210. U.S.A.) calibrado a pH 4 y 7. Para determinar la DIVMS el contenido del biofermentador a las 72 h de incubación fue filtrado en papel filtro para recuperar la materia seca no degradada y por diferencia de peso se calculó la degradabilidad (Mellenberger *et al.*, 1970).

Diseño y Análisis Estadístico

El diseño experimental fue completamente aleatorio con diez tratamientos y cinco repeticiones. Las variables pH, DIVMS, concentración molar de acetato, propionato, butirato, AGVs totales, la producción de biogás y la concentración de CH₄ y CO₂ g MS⁻¹ se analizaron a las 72 h de incubación. Los resultados

se analizaron con PROC GLM de SAS (2010) y las medias se compararon con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del examen químico de las dietas se muestran en el Cuadro 1. Los valores de proteína cruda mostraron diferencias ($P < 0.05$) entre las dietas evaluadas. Las dietas que contenían 30 y 45% de *L. leucocephala* y 45% de *G. ulmifolia* tuvieron el mayor contenido de proteína con relación a la dieta con 100% de *C. nlemfuensis*.

La fracción de FIDA presentó diferencias ($P < 0.05$) entre las dietas evaluadas; la dieta con 45% de *M. oleifera* tuvo menor porcentaje de FIDA, comparado con la dieta con 100% de pasto *C. nlemfuensis*. Los porcentajes de FIDN mostraron diferencias ($P < 0.05$) entre las distintas dietas, la dieta de 100% de pasto *C. nlemfuensis* tuvo el mayor contenido de FIDN. El porcentaje de hemicelulosa también mostró diferencias ($P < 0.05$) entre las dietas evaluadas; la dieta con 100% de pasto *C. nlemfuensis* presentó el mayor contenido. Los valores de cenizas no presentaron diferencias ($P > 0.05$) entre las dietas.

Los resultados de proteína, FIDN, hemicelulosa y cenizas de la dieta con 100% de pasto *C. nlemfuensis* fueron superiores a los encontrados por Ley-de Coss *et al.* (2018) para el mismo pasto cosechado a los 75 días. En contraste, fueron inferiores en proteína y cenizas a lo reportado por Villalobos y Arce (2014); pero similares a lo reportado por Maya *et al.* (2005) a los 28 días de corte. Rodríguez *et al.* (1998) indican que, al aumentar la inclusión de arbóreas en la dieta, aumenta el contenido de proteína y disminuye el porcentaje de FIDA y FIDN; debido a que las arbóreas tropicales tienen mayor contenido de proteína y menor proporción de pared celular que las gramíneas (Carmona, 2007). En estudios *in vivo* se han alimentado ovinos con una dieta a base de pasto clon Cuba CT-115 (*P. purpureum*) con la inclusión de *L. leucocephala* y se han obtenido mayores ganancias diarias de peso (Madera *et al.*, 2013). Se ha determinado que la suplementación con *L. leucocephala* durante la lactancia incrementa el peso de las crías al destete e incrementa la producción de leche en las hembras (Pérez *et al.*, 2017; López *et al.*, 2011). Mayren *et al.* (2018) y Gutiérrez *et al.* (2018), enfatizan que la calidad nutricional de las especies arbóreas como *M. oleifera*, *L. leucocephala*

Cuadro 1. Composición química de las dietas a base de *Cynodon nlemfuensis* con la adición de distintos niveles de *Moringa oleifera*, *Leucaena leucocephala* y *Guazuma ulmifolia*.**Table 1.** Chemical composition of the diets based on *Cynodon nlemfuensis* with the addition of different levels of *Moringa oleifera*, *Leucaena leucocephala* and *Guazuma ulmifolia*.

Dietas	Base seca (%)				
	PC	FIDA	FIDN	Hem	C
Cn-100	11.51d [†]	38.53a	74.95a	36.42a	9.96
Mo-15	12.01cd	35.03bcd	69.78bc	34.74ab	10.03
Mo-30	12.52cd	31.54e	64.62d	33.07bc	10.10
Mo-45	13.03cd	28.05f	59.46e	31.40c	10.17
Ll-15	13.72bcd	36.06abc	71.57b	35.50ab	9.54
Ll-30	15.93ab	33.59cde	68.19c	34.59ab	9.12
Ll-45	18.14a	31.13e	64.81d	33.68bc	8.70
Gu-15	12.53cd	36.68ab	71.46b	34.75ab	9.95
Gu-30	13.55bcd	34.84bcd	67.98c	33.08bc	9.94
Gu-45	14.57bc	33.00de	64.50d	31.41c	9.94
EEM	0.54	0.55	0.58	0.53	0.57

[†] Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Cn-100 = 100% *C. nlemfuensis*; Mo-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *M. oleifera*; Mo-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *M. oleifera*; Mo-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *M. oleifera*; Ll-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *L. Leucocephala*; Ll-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *L. Leucocephala*; Ll-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *L. Leucocephala*; Gu-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *G. Ulmifolia*; Gu-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *G. Ulmifolia*; Gu-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *G. ulmifolia*. EEM = error estándar de la media.

[†] Different letters in the same column indicate significant differences, according to the Tukey test ($P < 0.05$). Cn-100 = 100% *C. nlemfuensis*; Mo-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *M. oleifera*; Mo-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *M. oleifera*; Mo-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *M. oleifera*; Ll-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *L. Leucocephala*; Ll-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *L. Leucocephala*; Ll-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *L. Leucocephala*; Gu-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *G. Ulmifolia*; Gu-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *G. Ulmifolia*; Gu-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *G. ulmifolia*. SEM = standard error of the mean.

y *G. ulmifolia* mejoran la producción de los rumiantes al suplementar las dietas de pastos tropicales, porque mejora el consumo voluntario, la utilización del nitrógeno, incrementa la digestibilidad y disminuye las excreciones de nitrógeno. En el presente estudio la incorporación de 15, 30 y 45% de *L. leucocephala* en la dieta del pasto *C. nlemfuensis* aumentó el contenido de proteína de las dietas. Petit *et al.* (2011) reportan que *L. leucocephala* es la especie que tiene alto contenido de proteína y menor proporción de paredes celulares que las gramíneas, por lo que es una buena opción como forraje para el ganado en el trópico. La DIVMS presentó diferencias ($P < 0.05$) entre las dietas (Cuadro 2).

La dieta con 30% de *M. oleifera* mostró la mayor ($P < 0.05$) DIVMS, mientras que las dietas con 45% de *M. oleifera*, 30% de *L. leucocephala* y 30% de *G. ulmifolia* presentaron los más bajos porcentajes ($P < 0.05$). Los resultados de este estudio para la dieta a base de 100% de pasto *C. nlemfuensis* fueron menores a los reportados por Villalobos y Arce (2014), pero fueron mayores a los reportados por Sandoval *et al.* (2016) a

los 35 días de rebrote. En general, los porcentajes de DIVMS de las dietas fueron superiores al 50%. Los datos obtenidos fueron similares a los resultados reportados por Rodríguez *et al.* (1998), quienes adicionaron 5, 10, 20 y 40% de arbóreas a dietas a base de pastos. Por otra parte, se ha determinado que la adición de arbóreas a las dietas no asegura un incremento en la DIVMS; debido a que hay un desbalance entre el aporte de proteína y energía, debido a que las arbóreas tienen bajo contenido de carbohidratos de fácil fermentación. Estos desbalances de proteína y energía en el rumen no permiten la utilización total del amoníaco producido por la degradación de las proteínas, limitando el crecimiento microbiano y reduciendo la degradabilidad de la materia seca (Van-Soest, 1982).

Las dietas evaluadas no presentaron diferencias ($P > 0.05$) en pH a las 72 h de incubación (Cuadro 2), estos valores fueron superiores a 6.2, siendo adecuados para la proliferación de la población de bacterias, sobre todo de las bacterias celulolíticas que degradan las paredes celulares (Cobos *et al.*, 2018).

Cuadro 2. Degradabilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), Concentración de AGVs y pH de las dietas evaluadas a 72 horas de incubación.**Table 2. *In vitro* dry matter degradability (INDMD), VAF Concentration and pH of diets evaluated at 72 hours of incubation.**

Dietas	DIVMS	pH	Acetato	Propionato	Butirato	AGVs Totales	Relación Acet:Prop
	%		----- mM L ⁻¹ -----				
Cn-100	57.50abc	6.24	21.89bc	11.08bcd	6.11ab	39.08bc	1.98ab
Mo-15	55.34bc [†]	6.27	23.29b	12.31b	7.00ab	42.60b	1.89ab
Mo-30	61.25a	6.27	20.89bcd	10.52bcd	5.69b	37.10bc	1.99ab
Mo-45	52.50c	6.25	30.00a	17.11a	8.82a	55.93a	1.75b
Ll-15	55.94abc	6.21	21.85bc	11.17bcd	6.09ab	39.11bc	1.96ab
Ll-30	51.88c	6.37	18.53d	8.87d	4.85b	32.25c	2.09a
Ll-45	59.04ab	6.40	21.77bc	11.25bcd	5.61b	38.63bc	1.94ab
Gu-15	54.34bc	6.30	21.89bc	11.34bcd	6.37ab	39.60bc	1.93ab
Gu-30	52.11c	6.34	19.24cd	9.07cd	5.02b	33.33c	2.13a
Gu-45	54.92bc	6.28	22.98b	12.08bc	6.13ab	41.19bc	1.90ab
EEM	1.17	0.06	0.61	0.60	0.59	1.81	0.05

[†] Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Cn-100 = 100% *C. nlemfuensis*; Mo-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *M. oleifera*; Mo-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *M. oleifera*; Mo-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *M. oleifera*; Ll-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *L. Leucocephala*; Ll-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *L. Leucocephala*; Ll-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *L. Leucocephala*; Gu-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *G. Ulmifolia*; Gu-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *G. Ulmifolia*; Gu-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *G. ulmifolia*. EEM = error estándar de la media.

[†] Different letters in the same column indicate significant differences, according to the Tukey test ($P < 0.05$). Cn-100 = 100% *C. nlemfuensis*; Mo-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *M. oleifera*; Mo-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *M. oleifera*; Mo-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *M. oleifera*; Ll-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *L. Leucocephala*; Ll-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *L. Leucocephala*; Ll-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *L. Leucocephala*; Gu-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *G. Ulmifolia*; Gu-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *G. Ulmifolia*; Gu-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *G. ulmifolia*. SEM = standard error of the mean.

La fermentación ruminal de las dietas con alto contenido de paredes celulares no causa disminución de pH menor a 6.2 debido a que la mayor parte de la glucosa liberada se fermenta hasta acetato (Ley-de Coss *et al.*, 2018). En el Cuadro 2 se muestra la concentración de AGVs y la relación acetato: propionato determinada en las dietas a las 72 h de incubación. Se encontraron diferencias ($P < 0.05$) en las concentraciones de acetato y propionato, la dieta con 45% de *M. oleifera* presentó la mayor ($P < 0.05$) concentración de ambos AGVs; mientras que la dieta con 30% de *L. leucocephala* tuvo la menor ($P < 0.05$) concentración. Para butirato, la mayor ($P < 0.05$) concentración la tuvo la dieta con 45% de *M. oleifera*; la dieta con 45% de *M. oleifera* tuvo la mayor ($P < 0.05$) concentración de AGVs totales, mientras que las dietas con 30% de *L. leucocephala* y 30% de *G. ulmifolia* tuvieron la menor concentración ($P < 0.05$). La relación acetato: propionato fue mayor ($P < 0.05$) para las dietas con 30% de *L. leucocephala* y 30% de *G. ulmifolia*, comparado con la dieta con 45% de *M. oleifera* que presentó una relación acetato: propionato menor ($P < 0.05$). Ley-de Coss

et al. (2018) reportaron para el pasto *C. nlemfuensis* valores de acetato, propionato, butirato, AGVs totales y una relación acetato: propionato muy superior a lo encontrado en el presente estudio. El acetato origina la producción de CH₄, por la mayor disponibilidad de CO₂ y H₂ para las *arqueas* metanogénicas; mientras que la formación de propionato se considera una forma de competencia por la captación de H₂ que causa una menor síntesis de CH₄ (Gidlund *et al.*, 2015). Lo anterior explica lo encontrado en este estudio en la dieta con 45% de *M. oleifera* que presentó la mayor concentración de acetato y butirato, comparado con la dieta con 30% de *L. leucocephala* que tuvo la menor concentración, y fue una de las dietas con la menor producción de CH₄.

La producción acumulada de biogás durante la fermentación ruminal *in vitro* presentó diferencias ($P < 0.05$) entre las dietas (Cuadro 3). A las 72 h la dieta con 45% de *L. leucocephala* la única que mostró la menor producción de biogás ($P < 0.05$), comparada con la dieta con 100% de pasto *C. nlemfuensis* que presentó la mayor producción ($P < 0.05$). La producción de

biogás *in vitro* está relacionada con la fermentación del alimento por los microorganismos ruminales, también la composición química de la dieta influye sobre el volumen producido de biogás (Gaviria *et al.*, 2015). Cuartas *et al.* (2015) mencionan que la producción de biogás está relacionada con la degradación de la FIDN y esta relación suele ser lineal, debido a que producen más biogás aquellos forrajes con mayor contenido de FIDN (Krizsan *et al.*, 2013).

Lo anterior coincide con los resultados del presente experimento, donde la dieta con 100% de pasto *C. nlemfuensis* presentó el mayor porcentaje de FIDN y mostró la mayor producción de biogás a las 72 h de

Cuadro 3. Producción acumulada de biogás, emisión de CH₄ y CO₂ (mL g MS⁻¹) a las 72 horas de incubación en dietas con la inclusión de arbustivas.

Table 3. Cumulative production of biogas, CH₄ and CO₂ emission (mL g MS⁻¹) after 72 hours of incubation in diets with the inclusion of shrubs.

Dietas	72 horas	CH ₄	CO ₂
	----- mL g MS ⁻¹ -----		
Cn-100	248.00a	33.01ab	214.97a
Mo-15	229.00ab	28.93abc	200.11ab
Mo-30	195.46ab	25.38bc	170.40ab
Mo-45	217.93ab	34.43a	183.29ab
Ll-15	225.73ab	27.29abc	198.08ab
Ll-30	205.46ab	24.48bc	180.74ab
Ll-45	187.26b [†]	23.97c	163.17b
Gu-15	232.33ab	28.75abc	203.64ab
Gu-30	212.80ab	30.01abc	182.60ab
Gu-45	235.66ab	28.84abc	206.75ab
EEM	11.94	1.79	10.25

[†] Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Cn-100 = 100% *C. nlemfuensis*; Mo-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *M. oleifera*; Mo-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *M. oleifera*; Mo-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *M. oleifera*; Ll-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *L. Leucocephala*; Ll-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *L. Leucocephala*; Ll-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *L. Leucocephala*; Gu-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *G. Ulmifolia*; Gu-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *G. Ulmifolia*; Gu-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *G. ulmifolia*. EEM = error estándar de la media.

[†] Different letters in the same column indicate significant differences, according to the Tukey test ($P < 0.05$). Cn-100 = 100% *C. nlemfuensis*; Mo-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *M. oleifera*; Mo-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *M. oleifera*; Mo-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *M. oleifera*; Ll-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *L. Leucocephala*; Ll-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *L. Leucocephala*; Ll-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *L. Leucocephala*; Gu-15 = 85% *C. nlemfuensis* + 15% *G. Ulmifolia*; Gu-30 = 70% *C. nlemfuensis* + 30% *G. Ulmifolia*; Gu-45 = 55% *C. nlemfuensis* + 45% *G. ulmifolia*. SEM = standard error of the mean.

incubación, además la dieta con 45% de *L. leucocephala* tuvo la menor producción acumulada de biogás a las 72 h, y fue una de las dietas con menor porcentaje de FIDN. Estos datos coinciden con lo encontrado por Rodríguez *et al.* (2014) quienes al fermentar *in vitro* *L. leucocephala* y *M. oleifera* durante 72 h, determinaron mayor producción de biogás en *M. oleifera* con respecto a *L. leucocephala*. En contraste, Ramírez *et al.* (2012) reportan menor producción de biogás para *G. ulmifolia*. Por otra parte, Gaviria *et al.* (2015) también reportó menor producción de biogás al incluir 23% de *L. leucocephala* en una dieta de pasto *Panicum maximum*.

Ley-de Coss *et al.* (2018) reportaron para *C. nlemfuensis* una producción de biogás superior en más del 100% a los resultados encontrados en el presente experimento a las 72 horas. Las emisiones de CH₄ y CO₂ en las dietas mostraron diferencias ($P < 0.05$). La menor emisión de CH₄ se determinó en la dieta con 45% de *L. leucocephala*, en contraste las dietas con 100% de pasto *C. nlemfuensis* y con 45% de *M. oleifera* presentaron las mayores emisiones. La mayor emisión de CO₂ la tuvo la dieta con 100% de pasto *C. nlemfuensis*, comparado con la dieta con 45% de *L. leucocephala* que presentó las menores emisiones (Cuadro 3). En general la dieta con 45% de *L. leucocephala* produjo 18% menor emisión de CH₄, en comparación con la dieta con 45% de *M. oleifera* que tuvo la mayor emisión de CH₄; además tuvo 24% menor producción de CO₂ comparado con la dieta de 100% de pasto *C. nlemfuensis* que presentó la mayor producción de CO₂. En contraste, otras investigaciones en condiciones similares han reportado emisiones de CH₄ superiores a las obtenidas en el presente estudio en pasto *Pennisetum clandestinum* y pasto *Cynodon nlemfuensis* a las 72 h de incubación (Posada *et al.*, 2014). También, Ley-de Coss *et al.* (2018) reportan emisiones de CH₄ superiores, además indican que este gas se encuentra en mayor proporción (73.9%) de los gases emitidos durante la fermentación a 72 horas. Galindo *et al.* (2014), reportan emisiones de CH₄ superiores para *C. nlemfuensis* y *G. ulmifolia*, y menores emisiones para *M. oleifera* y *L. leucocephala*. En el presente estudio se destaca que la inclusión de *Leucaena leucocephala* a las dietas a base de pasto *C. nlemfuensis* presentó mayor capacidad para reducir las emisiones de CH₄ en comparación con *Moringa oleifera* y *Guazuma ulmifolia*. Probablemente la reducción en las emisiones de CH₄ y CO₂ se puede

explicar por la presencia de metabolitos secundarios como los taninos y las saponinas en el follaje de *L. leucocephala* (Verdecia *et al.*, 2012), que pueden afectar el desarrollo de las poblaciones microbianas del rumen, en especial de las *arqueas* metanogénicas, además el mayor aporte de proteínas pueden cambiar los patrones de fermentación hacia una mayor formación de propionato para reducir la producción de CH₄ (Bodas *et al.*, 2012). Vélez *et al.* (2014) reportan que las saponinas disminuyen la metanogénesis de modo indirecto al reducir la disponibilidad de H₂ al reducir la población de protozoarios, los cuales se encuentran en endosimbiosis con las *arqueas* metanogénicas cuya relación puede generar de 9 a 37% de las emisiones totales de CH₄. Además, las saponinas pueden favorecer un aumento de la concentración de propionato y reducir la producción de acetato y butirato, lo que resulta en una menor producción de hidrógenos necesarios para la producción de metano (Patra y Saxena, 2009, 2010). Por otra parte, la inhibición de la metanogénesis ruminal por los taninos ha sido atribuido a un efecto directo sobre las *arqueas* metanogénicas y los protozoarios (Patra y Saxena, 2011). Se ha determinado que los taninos pueden inhibir el crecimiento de las bacterias, *arqueas* metanogénicas y protozoarios ruminales (McSweeney *et al.*, 2001), también reducen la producción de acetato, lo que disminuye la formación de CO₂ e H₂ para la producción de metano (Bodas *et al.*, 2012). Los taninos condensados (Ku *et al.*, 2014), causan una reducción de la degradación ruminal de la fibra, lo que produce una disminución de la liberación de hidrógeno (Bonilla y Lemus, 2012). Hernández-Escobar *et al.* (2017), indican que al adicionar 15% de arbóreas a dietas de pastos no presentaron diferencias ($P > 0.05$) en las emisiones de CH₄ y CO₂ durante fermentación ruminal *in vitro*. De manera similar en la presente investigación la inclusión de 15% de *L. leucocephala*, *M. oleífera* y *G. ulmifolia* a una dieta de pasto *C. nlemfuensis* no presentó diferencias significativas en las emisiones de CH₄ y CO₂ comparado con la dieta con 100% del pasto.

CONCLUSIÓN

La leguminosa *Leucaena leucocephala* es una excelente alternativa como aporte de nutrientes para mejorar la dieta de los rumiantes, así como, un recurso valioso para disminuir las emisiones de CH₄ y CO₂ al medio ambiente. La inclusión de 45% de *L. leucocephala*

en una dieta a base de pasto *C. nlemfuensis* redujo 18% las emisiones de CH₄ y 24% las de CO₂ durante la fermentación ruminal estimada *in vitro*. Se sugiere realizar más investigaciones con el follaje de estas arbóreas tanto *in vitro* como *in vivo* a diferentes edades de la planta, en diferente época del año y medir la presencia y concentración de metabolitos secundarios, antes y después de la fermentación para determinar su degradabilidad en el rumen.

LITERATURA CITADA

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official method of analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA.
- Aregheore, E. M. 1999. Nutritive and antinutritive value of some tree legumes used in ruminant livestock nutrition in Pacific island countries. *J. South Pacific Agric.* 6: 50-61.
- Bodas, R., N. Prieto, R. García-González, S. Andrés, F. J. Giráldez, and S. López. 2012. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Anim. Feed Sci. Tech.* 176: 78-93. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.010>.
- Bonilla-Cárdenas, J. A. y C. Lemus-Flores. 2012. Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático. Revisión. *Rev. Mex. Cienc. Pec.* 3: 215-246.
- Cabrera-Carrión, J. L., C. Jaramillo-Jaramillo, F. Dután-Torres, J. Cun-Carrión, P. A. García y L. Rojas-de Astudillo. 2017. Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa oleífera* lam. en función de su edad y altura. *Bioagro* 29: 53-60.
- Cardona-Iglesias, J. L., L. Mahecha-Ledesma y J. Angulo-Arizala. 2016. Arbustivas forrajeras y ácidos grasos: estrategias para disminuir la producción de metano entérico en bovinos. *Agroam.* 28: 273-288. doi: 10.15517/am.v28i1.21466.
- Carmona-Agudelo, J. C. 2007. Efecto de la utilización de arbóreas y arbustivas forrajeras sobre la dinámica digestiva en bovinos. *Rev. Lasallista Invest.* 4: 40-50.
- Cobos-Peralta, M. A. y T. Yokoyama. 1995. Clostridium paratrificum var. ruminantium: colonization and degradation of shrimp carapaces *in vitro* observed by scanning electron microscopy. pp. 151-161. In: R. J. Wallace and A. Lahloukassi (eds.). Rumen ecology research planning. Proceedings of a Workshop Held at ILRI (International Livestock Research Institute). Addis Ababa, Ethiopia. ISBN: 92-9146-005-2.
- Cobos-Peralta, M. A., K. R. Curzaynz-Leyva, M. I. Rivas-Martínez, E. A. Santillán-Gómez y J. R. Bárcena. 2018. Efecto *in vitro* de dietas para corderos más un suplemento de granos secos de destilería en la fermentación ruminal y emisiones de gases. *Agrociencia* 52: 203-215.
- Cordoví, E., J. V. Ray, O. Tamele, S. Nthumbo y A. Chimbambala. 2013. Caracterización de especies arbóreas y arbustivas forrajeras en clima semiárido del sur de Mozambique. *Pastos y Forrajes* 36: 434-439.

- Cuartas-Cardona, C. A., J. F. Naranjo-Ramírez, A. M. Tarazona-Morales, R. Barahona-Rosales, J. E. Rivera-Herrera, F. A. Arenas-Sánchez y G. A. Correa-Londoño. 2015. Valor nutritivo y cinética de fermentación *in vitro* de mezclas forrajeras utilizadas en sistemas silvopastoriles intensivos. *Zootecnia Trop.* 33: 295-306.
- Galindo, J., N. González, Y. Marrero, A. Sosa, T. Ruiz, G. Febles, V. Torres, A. I. Aldana, G. Achang, O. Moreira, L. Sarduy y A. C. Noda. 2014. Efecto del follaje de plantas tropicales en el control de la producción de metano y la población de protozoos ruminales *in vitro*. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 48: 359-364.
- García, D. E., M. G. Medina, C. Domínguez, A. Baldizán, J. Humbria y L. Cova. 2006. Evaluación química de especies no leguminosas con potencial forrajero en el estado Trujillo, Venezuela. *Zootecnia Trop.* 24: 401-415.
- Gaviria, X., J. F. Naranjo y R. Barahona. 2015. Cinética de fermentación *in vitro* de *Leucaena leucocephala* y *Megathyrsus maximus* y sus mezclas, con o sin suplementación energética. *Pastos y Forrajes.* 38: 55-63.
- Gidlund, H., M. Hetta, S. J. Krizsan, S. Lemosquet, and P. Huhtanen. 2015. Effects of soybean meal or canola meal on milk production and methane emissions in lactating dairy cows fed grass silage-based diets. *J. Dairy Sci.* 98: 8093-8106. doi: 10.3168/jds.2015-9757.
- Gutiérrez-González, D., N. N. González-González, A. Elías-Iglesias, R. García-López y O. R. Tuero-Martínez. 2018. Efecto de diferentes proporciones de *Moringa oleifera*: *Cenchrus purpureus* sobre el consumo voluntario y el balance de nitrógeno. *Pastos y Forrajes* 41: 227-232.
- Hernández-Escobar, M. R., R. Pinto-Ruiz, A. Ley-de Coss, D. Raj-Aryall, D. Hernández-Sánchez, J. A. Jiménez y H. Gómez-Castro. 2017. Producción de gases efecto invernadero de dietas para bovinos con especies arbóreas con alto contenido de metabolitos secundarios. pp. 547-551. In: A. Yamasaki Maza, L. Yamasaki Maza, G. Yong Angel, G. P. Macias Farrera, H. León Velasco, E. de J. Pérez Luna y J. B. Sánchez Muñoz (eds.). XLIV Reunión científica AMPA, Clima y ganadería: Productividad sustentable. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNACH. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. ISBN: 9781370695799.
- Hernández-Morales, J., P. Sánchez-Santillán, N. Torres-Salado, J. Herrera-Pérez, A. R. Rojas-García, I. Reyes-Vázquez y M. A. Mendoza-Núñez. 2018. Composición química y degradaciones *in vitro* de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México. *Rev. Mex. Cienc. Pec.* 9: 105-120. doi: http://dx.doi.org/10.22319/rmcp.v9i1.4332.
- Hoste, H., J. F. Torres-Acosta, C. A. Sandoval-Castro, I. Mueller-Harvey, S. Sotiraki, H. Louvandini, S. M. Thamsborg, and T. H. Terrill. 2015. Tannin containing legumes as a model for nutraceuticals against digestive parasites in livestock. *Vet. Parasitol.* 212: 5-17. doi: 10.1016/j.vetpar.2015.06.026.
- Jarillo-Rodríguez, J., E. Castillo-Gallegos, A. F. Flores-Garrido, B. Valles-de la Mora, L. Ramírez-y Avilés, R. Escobar-Hernández y E. Ocaña-Zavaleta. 2011. Producción de forraje, calidad y eficiencia de utilización de pastos nativos bajo diferente carga animal y época del año en el trópico húmedo mexicano. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 13: 417-427.
- Krizsan, S. J., F. Jančík, M. Ramin, and P. Huhtanen. 2013. Comparison of some aspects of the *in situ* and *in vitro* methods in evaluation of neutral detergent fiber digestion. *J. Anim. Sci.* 91: 838-847. doi: 10.2527/jas2012-5343.
- Ku-Vera, J. C., E. G. Briceño, A. Ruiz, R. Mayo, A. J. Ayala, C. F. Aguilar, F. J. Solorio y L. Ramírez. 2014. Manipulación del metabolismo energético de los rumiantes en los trópicos: opciones para mejorar la producción y la calidad de la carne y leche. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 48: 43-53.
- Lana, R. P., J. B. Russell, and M. E. Van-Amburgh. 1998. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. *J. Anim. Sci.* 76: 2190-2196. doi: 10.2527/1998.7682190x.
- Laredo C., M. A. 1985. Tabla de contenido nutricional en pastos y forrajes de Colombia. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Bogotá, Colombia.
- Ley-de Coss, A., C. Guerra-Medina, O. Montañez-Valdez, F. Guevara, R. Pinto y J. Reyes-Gutiérrez. 2018. Producción *in vitro* de gas metano por gramíneas forrajeras tropicales. *Rev. MVZ Córdoba* 23: 6788-6798. doi: https://doi.org/10.21897/rmvz.1368.
- López, Y., J. Arece, E. León y N. Aróstica. 2011. Comportamiento productivo de reproductoras ovinas en un sistema silvopastoril. *Pastos y Forrajes* 34: 87-96.
- Luna-Cazáres, L. M. y A. R. González-Esquinca. 2017. Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana de *Guazuma ulmifolia* Lam. (Cuauilote) en dos etapas fenológicas. *Rev. Lacandonia* 1: 37-44.
- Madera-Solís, N. B., H. M. Bacab-Pérez y B. Ortiz-de la Rosa. 2013. Ganancia diaria de peso en ovinos por inclusión de una planta leguminosa (*Leucaena leucocephala*) en dietas basadas en pasto clon Cuba CT-115 (*Pennisetum purpureum*). *Bioagrociencias* 6: 26-31.
- Maya, G. E., C. V. Durán C. y J. E. Ararat. 2005. Valor nutritivo del pasto estrella solo y en asociación con *Leucaena* a diferentes edades de corte durante el año. *Acta Agron.* 54: 41-46.
- Mayren-Mendoza, F. J., A. R. Rojas-García, M. A. Maldonado-Peralta, O. Ramírez-Reynoso, J. Herrera-Pérez, N. Torres-Salado, P. Sánchez-Santillán, M. B. Bottini-Luzardo y A. Hernández-Garay. 2018. Comportamiento productivo de ovinos pelibuey en pastoreo suplementados con follaje de *Guazuma ulmifolia* Lam. *Agroproductividad* 11: 29-33.
- McSweeney, C. S., B. Palmer, D. M. McNeill, and D. O. Krause. 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 91: 83-93. doi: https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00232-2.
- Mellenberger, R. W., L. D. Satter, L. A. Millett, and A. J. Baker. 1970. An *in vitro* technique for estimating digestibility of treated and untreated wood. *J. Anim. Sci.* 30: 1005-1011. doi: https://doi.org/10.2527/jas1970.3061005x.
- Mojica-Rodríguez, J. E., E. Castro-Rincón, J. Carulla-Fornaguera y C. E. Lascano-Aguilar. 2017. Efecto de la especie y la edad de rebrote en el perfil de ácidos grasos de leguminosas y arbustivas tropicales. *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropec.* 18: 463-477 doi: https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num3_art:738.
- Muñoz-González, J. C., M. Huerta-Bravo, A. Lara-Bueno, R. Rangel-Santos y J. L. de la Rosa-Arana. 2016. Producción de materia seca de forrajes en condiciones de trópico húmedo en México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc. Pub. Esp.* 16: 3329-3341.

- Padma, B. and S. Sumathi. 1993. Effect of chemical treatments on tannins and *in vitro* protein digestibility of pigeon pea (*Cajanus cajan*) and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Legume Res.* 16: 1-7.
- Patra, A. K. and J. Saxena. 2009. The effect and mode of action of saponins on the microbial populations and fermentation in the rumen and ruminant production. *Nutr. Res. Rev.* 22: 204-219. doi: 10.1017/S0954422409990163.
- Patra, A. K. and J. Saxena. 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry* 71: 1198-1222.
- Patra, A. K. and J. Saxena. 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *J. Sci. Food Agric.* 91: 24-37. doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.4152>.
- Pérez-Corriá, K., N. Fonseca-Fuente, J. Vázquez-Aldana, N. Rojas-Gámez, A. Botello-León, N. G. Zambrano-Cuadro, F. H. Jines Fernández, J. L. Ramírez-de la Ribera y E. Chacón-Marcheco. 2017. Respuesta productiva de la oveja Pelibuey en el período de lactancia alimentada con *Leucaena leucocephala*. *Rev. Electrón. Vet.* 18: 1-8.
- Petit Aldana, J., G. Uribe V., F. Casanova L., F. Solorio S. y L. Ramírez A. 2011. Composición química y rendimiento de forraje de *Leucaena leucocephala*, *Guazuma ulmifolia* y *Moringa oleífera* asociadas y en monocultivo en Yucatán, México. *Rev. For. Latinoam.* 26: 35-65.
- Pinto-Ruiz, R. D. Hernández-Sánchez, L. Ramírez-Avilés, C. A. Sandoval-Castro, M. Cobos-Peralta y H. Gómez-Castro. 2009. Taninos y fenoles en la fermentación *in vitro* de leñosas forrajeras tropicales. *Agron. Mesoam.* 20: 81-89. doi: 10.15517/am.v20i1.4983.
- Posada-Ochoa, S. L., J. F. Ramírez-Agudelo y R. Rosero-Noguera. 2014. Producción de metano y digestibilidad de mezclas kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) - papa (*Solanum tuberosum*). *Agron. Mesoam.* 25: 141-150.
- Ramírez, R., P. Pizzani, G. De Martino, D. García, Z. Linares, O. Colmenares y C. Domínguez. 2012. Estimación *in vitro* de gases con efecto invernadero en frutos y follaje de árboles de un bosque seco tropical de Venezuela. *Pastos y Forrajes* 35: 99-108.
- Ribeiro-Pereira, L. G., F. S. Machado, M. M. Campos, R. G. Morati Junior, T. R. Tomich, L. G. Reis y C. E. O. Coombs. 2015. Estrategias de mitigación de metano entérico en rumiantes: revisión de literatura. *Rev. Colomb. Cienc. Pec.* 28: 124-143.
- Rodríguez, A. A., E. O. Riquelme y P. F. Randel. 1998. Inclusión de leguminosas forrajeras en dietas basadas en gramíneas tropicales. I. Composición química y degradación *in vitro*. *J. Agríc. Univ. P. R.* 82: 25-38.
- Rodríguez, R., N. González, J. Alonso, M. Domínguez y L. Sarduy. 2014. Valor nutritivo de harinas de follaje de cuatro especies arbóreas tropicales para rumiantes. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 48: 371-378.
- Rojas-Schroeder, J. Á., L. Sarmiento-Franco, C. A. Sandoval-Castro y R. H. Santos-Ricalde. 2017. Utilización del follaje de ramón (*Brosimum alicastrum* Swarth) en la alimentación animal. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 20: 363-371.
- Rosado-Aguilar, J. A., A. J. Aguilar-Caballero, R. I. Rodríguez-Vivas, R. Borges-Arráez, Z. García-Mendez, and M. Méndez-González. 2010. Screening of the acaricidal efficacy of phytochemical extracts on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (acari: ixodidae) by larval immersion test. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 12: 417-422.
- Sandoval-González, L., L. A. Miranda-Romero, A. Lara-Bueno, M. Huerta-Bravo, M. Uribe-Gómez y M. Martínez-Martínez. 2016. Fermentación *in vitro* y la correlación del contenido nutricional de *Leucaena* asociada con pasto estrella. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 16: 3185-3196. doi: <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i16.388>.
- SAS Institute. 2010. SAS education analytical suite for using Windows release 9.2. SAS Institute. Cary, NC, USA.
- Torres-Acosta, J. F. de J., M. A. Alonso-Díaz, H. Hoste, C. A. Sandoval-Castro y A. J. Aguilar-Caballero. 2008. Efectos negativos y positivos del consumo de forrajes ricos en taninos en la producción de caprinos. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 9: 83-90.
- Van-Soest, P. J. 1982. Nutritional ecology of the ruminant. O & B Books. Corvallis, OR, USA.
- Van-Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991 Methods for dietary fiber, neutral detergents fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.
- Velázquez-Zavala, M., I. E. Peón-Escalante, R. Zepeda-Bautista, and M. A. Jiménez-Arellanes. 2016. Moringa (*Moringa oleífera* Lam.): potential uses in agriculture, industry and medicine. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* 22: 95-116. doi: <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.2015.07.018>.
- Vélez-Terranova, M., R. Campos-Gaona y H. Sánchez-Guerrero. 2014. Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 17: 489-499.
- Vélez-Terranova, M., R. Campos-Gaona y H. Sánchez-Guerrero. 2015. Propiedades antimetanogénicas *in vitro* de algunas plantas adaptadas a las condiciones de sabana inundable del departamento de Arauca, Colombia. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 18: 335-345.
- Verdecia, D. M., H. Herrera, J. L. Ramírez, I. Leonard, Y. Álvarez, Y. Bazán, Y. Arceo, R. Bodas, S. Andrés, J. Álvarez, F. Giráldez y S. López. 2012. Valor nutritivo de *Leucaena leucocephala*, con énfasis en el contenido de metabolitos secundarios. *REDVET Rev. Electrón. Vet.* 13: 1-10.
- Villalobos, L. y J. Arce. 2014. Evaluación agronómica y nutricional del pasto estrella africana (*Cynodon nlemfuensis*) En la zona de Monteverde, Puntarenas, Costa Rica. II. Valor nutricional. *Agron. Costarricense* 38: 133-145.