



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS

**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE EXTRACTO DE TOMILLO (*THYMUS VULGARIS*)
EN FORRAJES PARA LA ALIMENTACIÓN DE CAPRINOS A PARTIR DE LAS
TÉCNICAS DE PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO***

PRESENTA:

PMVZ ABEL ELÍAS ROLDÁN MILLÁN

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR

Dr. Rodolfo Lucio Domínguez

CO-ASESOR

MVZ EPA Ramiro Ángel Mendoza

ASESOR EXTERNO

Dr. Manuel González Ronquillo

Morelia, Michoacán; Junio del 2018



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS

**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE EXTRACTO DE TOMILLO (*THYMUS VULGARIS*)
EN FORRAJES PARA LA ALIMENTACIÓN DE CAPRINOS A PARTIR DE LAS
TÉCNICAS DE PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO***

PRESENTA:

PMVZ ABEL ELÍAS ROLDÁN MILLÁN

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Morelia, Michoacán; Junio del 2018

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo es gracias a la ardua tarea de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, porque ha sido y será mi segunda casa donde adquirí las herramientas necesarias para empezar a laborar como profesionista, con ética y valores que se desempeñan en esta fortificante profesión. A mis profesores y cuerpo académico de mi carrera, en especial al Doctor Rodolfo Lucio Domínguez, el MC José Luis Carlos Bedolla Cedeño y al MC Ángel Raúl Cruz Hernández por las facilidades prestadas en el presente trabajo.

También quiero agradecer a la Universidad Autónoma del Estado de México, por las capacitaciones y por recibirnos tres meses para la elaboración de este proyecto, al Laboratorio de Alimentos y a la Posta Zootécnica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la suscrita universidad; pero en especial un agradecimiento enorme al Doctor Manuel González Ronquillo por su arduo trabajo, sus conocimientos y ser partícipe de este trabajo.

A cada una de las personas que me ayudaron con sus conocimientos para que esto fuera posible.

DEDICATORIA

A mis padres:

En primer lugar, este trabajo es especial puesto que sin mis padres Martha Imelda Millán Chávez y Abel Roldán Estrada, no hubiese podido lograr las metas que me he propuesto, puesto que ellos me han enseñado a luchar y no darme por vencido, este es uno de mis grandes pasos para poder desempeñarme en esta vida como una persona de bien gracias por todo, espero poder reeditar mucho de lo que me han dado.

A mis hermanos y mi sobrino:

A mi hermana Celeste y mi hermano Daniel, quienes me han ayudado a madurar y me enseñan secretos de la vida, me es muy complaciente coincidir en esta vida como hermanos y amigos. También se la dedico a un pequeñito muy platicador e inteligente que me enseña a seguir cuestionándome muchas cosas mi querido sobrino Mateo.

En general:

A todas esas personas que para bien o para mal han pasado por mi vida puesto que al final todos me dejaron una lección, me enseñaron a entender el bien o el mal y a aprender a cuestionarme para dejar de ser un neófito, para aquellas personas especiales que aún estoy por conocer, a Dios porque he podido concluir muchas cosas, a la vida por ser polvo de estrellas.

“Los científicos pueden plantear los problemas que afectarán al medio ambiente con base en la evidencia disponible, pero su solución no es responsabilidad de los científicos, es de toda la sociedad”

- Dr. Mario José Molina y Henríquez -

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	VIII
INDÍCE DE GRÁFICAS	IX
RESÚMEN	X
ABSTRACT.....	XI
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Extracción Ultrasónica	3
Composición del extracto de Tomillo	5
Composición Química de los Alimentos	6
Carbohidratos	7
<i>Celulosa</i>	8
<i>Hemicelulosas</i>	8
<i>Lignina</i>	8
Lípidos	9
<i>Hidrólisis</i>	10
<i>Oxidación</i>	11
<i>Antioxidantes</i>	11
<i>Hidrogenación</i>	11
Proteínas	12
<i>Aminoácidos esenciales</i>	12
Vitaminas	12
Minerales	13
<i>Calcio</i>	13
<i>Relación calcio-fósforo</i>	13
<i>Fósforo</i>	14
Digestión	14
<i>Digestión microbiana en los rumiantes</i>	15
<i>Anatomía y fisiología de la digestión en los rumiantes</i>	15
<i>Microorganismos del rumen</i>	16
<i>Digestión de los carbohidratos</i>	16

Digestión de las proteínas	20
Compuestos nitrogenados no proteicos	20
Síntesis de vitaminas.....	21
Control y modificación de la fermentación en el rumen	22
Metabolismo energético	23
Forrajes	23
Henos	23
Heno de Avena.....	24
Heno de Alfalfa	25
Rastrojos	25
Rastrojo de Maíz	26
Pastos	27
Pasto Kikuyo.....	27
Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>)	28
Producción de Metano	29
Bacterias Metanogénicas	31
Prácticas de mitigación de gases de efecto invernadero	32
<i>Fermentación entérica</i>	33
<i>Suplementos alimenticios</i>	33
Inhibidores.....	33
Aceptores de electrones.....	33
Ionóforos	34
Compuestos bioactivos de las plantas (CBAP)	34
Lípidos dietéticos	35
Enzimas exógenas.....	35
Agentes microbianos en la alimentación	36
Desfaunación	36
Manipulación de las arqueas y de las bacterias del rumen	36
<i>Estiércol y gestión del estiércol</i>	37
<i>Crianza de los animales</i>	37
Método <i>in vitro</i>	37
Cálculo de Corrección de Blancos	39
MATERIALES Y MÉTODOS	41

Localización	41
Extracción de Tomillo	41
Toma de Muestras	41
Composición Química Proximal	42
Método <i>in vitro</i>	42
Krishnamoorthy, et al. (1991)	43
Cálculos estadísticos	44
Análisis Estadístico	46
RESULTADOS	47
DISCUSIÓN	57
Composición Química	57
Producción de Gas	58
CONCLUSIÓN	60
REFERENCIAS	61

ÍNDICE DE TABLAS

- **Tabla 1. Extractos obtenidos por Ultrasonicador 3**
- **Tabla 2. Composición del Extracto de Tomillo 5**
- **Tabla 3 Características generales de las principales familias de bacterias metanogénicas..... 32**
- **Tabla 4. Niveles de Inclusión de Extracto de Tomillo en los diferentes ingredientes que conforman la dieta. 39**
- **Tabla 5. Tabla de composición química de la dieta control y cuatro forrajes nativos en gr/Kg MD..... 50**
- **Tabla 6. Parámetros de producción de gas In vitro y volumen de gas acumulativo después de 72 h de incubación de cuatro especies de plantas taníferas y cuatro niveles de inclusión de Tomillo (mg/g DM) en la alimentación de caprinos..... 51**
- **Tabla 7. Perfil de fermentación ruminal In vitro de cuatro especies de plantas taníferas y cuatro niveles de inclusión de Tomillo en (mg/g DM) en la alimentación de caprinos. 53**

INDÍCE DE GRÁFICAS

- **Gráficas 1. Perfiles de producción de gas in vitro (mL/g MS) de raciones mixtas totales (TMR) que contienen diferentes niveles de Extracto de Tomillo 0, 6, 12 y 18 µl/mg MS..... 55**
- **Gráficas 2. Perfiles de producción de gas in vitro (mL de gas/Hora) de raciones mixtas totales (TMR) que contienen diferentes niveles de Extracto de Tomillo 0, 6, 12 y 18 µl/mg MS..... 56**

RESÚMEN

La siguiente investigación tiene como objetivo evaluar el efecto de la adición de extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*) a niveles de 0.0006 µl, 0.0012 µl y 0.0018 µl para los forrajes que componen una dieta de caprinos; como lo son el heno de alfalfa (*Medicago sativa*), heno de avena (*Avena sativa*), rastrojo de maíz (*Zea mays*) y pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*); realizando mediciones a las 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48 y 72 horas. Los diferentes sustratos se sembraron con líquido ruminal perteneciente a cabras con un peso vivo de 23 Kilogramos alimentados a base de una dieta de 50:50 heno de avena y heno de alfalfa; saliva artificial y a temperatura de 39 °C. La intención es medir la digestibilidad y la fermentación ruminal. Pasadas las 72 horas de incubación cada frasco se filtró y se pusieron a secar; adherido a esto se hicieron pruebas de análisis de la composición química de los alimentos; esto para determinar con ambos análisis directamente y con cálculos matemáticos la materia seca desaparecida (MSD), materia orgánica desaparecida (MOD), producción de gas relativa (PGR), producción de gas a las 24 horas (PG24hrs), ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y proteína cruda microbiana (PCM). A las 24 y 72 horas se obtuvo una menor producción el Heno de Alfalfa. En ambos casos la inclusión de 0.0012 µl del extracto de Tomillo con un 3.9%, seguido por el pasto kikuyo con un 8.99% con inclusión de 0.0018 µl, después el heno de avena con 10.27% con una inclusión del 0.0006 µl y al último el rastrojo de maíz con el 23.87% con una inclusión del 0.0018 µl, mostrando un efecto lineal. Los parámetros de producción de gas in vitro en Heno de Alfalfa se observa que resulta significativa la variable B ($P < 0.0005$) siendo mayor la producción de gas con la inclusión del 6% con respecto a la inclusión del 0% y la de menor aumento se da en la inclusión del 12%. Siendo así que la digestibilidad y degradabilidad de los alimentos no se vieron afectadas, de esta manera se obtuvo que debido a la alta cantidad de carbohidratos del extracto de tomillo no se obtuvo una disminución significativa en la producción de estos gases.

Palabras clave: Mitigación de gases | Gases de efecto invernadero | Extracto de tomillo | Caprinos | Producción de gas in vitro.

ABSTRACT

The following investigation aims to perform the evaluation of the effect of the addition of thyme extract (*Thymus vulgaris*) at levels of 0.0006 μl , 0.0012 μl and 0.0018 μl for the forages that make up a diet of goats; such as alfalfa hay (*Medicago sativa*), oat hay (*Avena sativa*), corn stubble (*Zea mays*) and kikuyo grass (*Pennisetum clandestinum*); performing measurements at 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48 and 72 hours. The different substrates were planted with ruminal fluid belonging to goats with a live weight of 23 Kilograms fed on a diet of 50:50 oats hay and alfalfa hay; artificial saliva and at a temperature of 39 ° C. The intention is to measure the digestibility and ruminal fermentation. After 72 hours of incubation, each bottle was filtered and dried; Adhered to this, tests were made of the chemical composition of the food; this to determine with both analysis directly and with mathematical calculations the dried matter disappeared (MSD), organic matter disappeared (MOD), production of relative gas (PGR), gas production at 24 hours (PG24hrs), short chain fatty acids (AGCC) and crude microbial protein (PCM). At 24 and 72 hours the Hay production of Alfalfa was lower. In both cases the inclusion of 0.0012 μl of the extract of Thyme with 3.9%, followed by the grass kikuyo with 8.99% including 0.0018 μl , then the hay of oats with 10.27% with an inclusion of 0.0006 μl and the last one stubble of corn with 23.87% with an inclusion of 0.0018 μl , showing a linear effect. The in vitro gas production parameters in Heno de Alfalfa show that variable B is significant ($P < 0.0005$), with gas production being greater with the inclusion of 6% with respect to the inclusion of 0% and the lowest increase it occurs in the inclusion of 12%. Being that the digestibility and degradability of the food were not affected, in this way it was obtained that due to the high amount of carbohydrates of the extract of thyme there was no significant decrease in the production of these gases.

Keywords: Gas mitigation | Greenhouse gases | Thyme extract | Caprines.

INTRODUCCIÓN

En términos económicos, políticos, culturales y sociales si no es el más importante el sector pecuario resulta de gran significado; ya que representa el 40% del producto interno bruto (PIB) agrícola, genera empleo para trescientos millones de personas, además de ser un medio de subsistencia para mil millones de pobres en el mundo. Resulta significativo en todas las esferas del medio ambiente, incluidos el cambio climático y el aire, tierra, suelo, agua y biodiversidad; ya que este impacto puede ser directo o indirecto. El sector pecuario actualmente continúa creciendo y se transforma velozmente; ya que la demanda de los subproductos de origen animal experimenta un rápido aumento a consecuencia del incremento de los ingresos, el crecimiento demográfico y la urbanización. La formulación de políticas más adecuadas para el sector pecuario es un requisito medioambiental además de una necesidad social y de salud (Steinfeld, et al., 2009).

Se ha calculado con base al análisis del ciclo de vida que el sector emite 7.1 Gt de CO_2 eq/año, o cerca del 18 por ciento del total de las emisiones de los Gases de Efecto Invernadero (GEI) antropogénicas (Alexander, et al., 2013). Estas emisiones se destacan por ser principalmente dióxido de carbono (CO_2) en un 27%, metano (CH_4) en un 44% y óxido nitroso (N_2O) en un 29% a lo largo del proceso productivo. Las emisiones de CH_4 provienen principalmente de fermentación entérica; las emisiones de CH_4 y N_2O provienen de la gestión del estiércol; las emisiones de CO_2 y N_2O provienen de la producción, elaboración y transporte de piensos; las emisiones de CO_2 provienen del consumo de energía (Gerber, et al., 2013).

Las emisiones de los pequeños rumiantes representan cerca del 6.5% de las emisiones globales del sector, y ascienden a 475 millones de toneladas de CO_2 eq, de las cuales 299 millones de toneladas se asignan a la producción de carne, 130 millones de toneladas son para la producción de leche y 46 millones de toneladas de CO_2 eq a la de otros bienes y servicios (Gerber, et al., 2013).

La cabra tiene una intensidad de emisión menor que la oveja, debido a los mayores rendimientos. La intensidad de emisiones media para la carne de pequeños rumiantes es de 23.8 kilogramos de CO₂ eq por kilogramo de peso en canal, sin grandes diferencias entre la carne de oveja y la de cabra. Más del 55% de las emisiones debidas a la producción de carne y leche de pequeños rumiantes proviene de la fermentación entérica. El consumo de energía posterior al faenado es menor debido a la escasa elaboración. Las emisiones provenientes del estiércol son menores, porque se deposita principalmente en pastizales. Con excepción de la leche en Europa Occidental, la carne de cordero y carnero en Oceanía y Europa Occidental, la producción de rumiantes suele ser más importantes en regiones menos prosperas (Alexander, et al., 2013).

REVISIÓN DE LITERATURA

Extracción Ultrasónica

La extracción ultrasónica es una técnica comercializada para la producción de extractos de alta calidad para la alimentación y bebidas, farmacéutica y cosmética. Mediante ultrasonidos, las extracciones completas pueden completarse ahora en minutos con alta reproducibilidad, reduciendo el consumo de disolvente, simplificando la manipulación y el tratamiento, dando una mayor pureza del producto final, eliminando el post-tratamiento de las aguas residuales y consumiendo sólo una fracción de la energía fósil que normalmente se necesita como la extracción de Soxhlet, la maceración o la destilación de Clevenger. Se han extraído, analizado y formulado eficientemente diversas clases de componentes alimentarios tales como aromas, pigmentos, antioxidantes y otros compuestos orgánicos, minerales de una variedad de matrices (principalmente tejidos animales, microalgas, levaduras, alimentos y materiales vegetales).

Tabla 1. Extractos obtenidos por Ultrasonicador

Extractos obtenidos por Ultrasonicador	
Aceites Esenciales	
Vitaminas	
Lípidos	
Proteínas	
Fitocomplexos	Fenoles
	Antioxidantes
	Polisacáridos
	Oleorresinas
	Ésteres
	Esencias
	Hidrolizados de proteínas
	Aminoácidos

	Saponinas
	Flavonoides
Alcaloides	Morfina
	Codeína
	Tebaína
Pigmentos/Colorantes	Carotenoides
	Clorofila
	Ficocianina
Antocianinas	
Limoneno	
Alantolactona	
Isoalantolactona	
Otras sustancias activas	

(Djenni, et al., 2013)

El ultrasonido consta de ondas elásticas cuya frecuencia se transmite sobre el umbral del oído humano (aproximadamente 20 kHz) (Mason, 1999). Se pueden distinguir tres tipos de ondas: longitudinales, que se desplazan en el sentido del ordenamiento de las partículas; ondas tipo esquiileo, que se mueven de forma perpendicular a tal ordenamiento; y las de tipo Rayleigh, que viajan muy cercanas a la superficie (Mulet, et al., 2002). Desde el punto de vista industrial, el ultrasonido se puede dividir en dos grandes grupos: ultrasonido de alta intensidad (UAI) y el ultrasonido de baja intensidad (UBI). El UAI es usado para modificar procesos o productos, mientras que el UBI, se aplica para el diagnóstico (Condón, et al., 2005).

La absorción de la energía acústica es especialmente importante en alimentos, debido al contenido de aire y a la bien lograda estructura que algunos productos poseen. Las frecuencias altas son más fácilmente atenuadas que las bajas, de ahí que el UAI es aplicado a bajas frecuencias (20-100 kHz) para obtener “niveles de poder altos” (10-100 W/cm²), por lo que se le conoce como ultrasonido de poder.

Por otro lado, el UBI, utiliza frecuencias mayores (250 kHz a 1 MHz o superiores) para garantizar una adecuada resolución, pero a “niveles de poder bajos”, típicamente menores a 1 W/cm^2 (Torley & Bhandari, 2007).

Desde el punto de vista de la conservación de alimentos el ultrasonido de interés es el denominado poder o de alta intensidad (UAI) (Mason, et al., 2005); se presentan cambios físicos y químicos dando lugar a la cavitación, fenómeno que también provoca la inactivación microbiana (Piyasena, et al., 2002). El UAI puede ser utilizado en la industria de los alimentos para limpieza y desinfección al provocar la destrucción microbiana, así como la inactivación enzimática, favorecer reacciones químicas y la extracción de ciertos compuestos (López-Malo, et al., 2005).

Composición del extracto de Tomillo

La investigación hecha por (Robles H., 2010) demuestra los principales compuestos del extracto de Tomillo, y son los siguientes:

Tabla 2. Composición del Extracto de Tomillo

Compuesto	Extracto de Tomillo
Hidrocarburos	-
Saponinas	-
Flavonoides	+
Sesquiterpentalactonas	+
Carbohidratos	+
p-benzoquinona	+
Alcaloides	+
Cumarinas	+
Aldehídos y Cetonas	+
Cloruros	-
Taninos	+

+ : Presencia del Compuesto, - : Ausencia del compuesto

Composición Química de los Alimentos

El análisis inmediato de análisis químicos se divide en seis fracciones: humedad, cenizas, proteína bruta, extracto etéreo, fibra bruta y extractos libres de nitrógeno.

La humedad se calcula a partir de la pérdida de peso que experimenta un alimento, al desecarse a 100 °C, hasta peso constante. Este método se adecua a la mayoría de los alimentos, algunos ensilados pueden tener pérdidas importantes de sustancias volátiles. Las cenizas se determinan por la ignición a 550 °C del alimento hasta que todo el carbono ha sido eliminado; sin embargo, el contenido en cenizas no es totalmente representativo del material inorgánico de los alimentos ni cualitativa ni cuantitativamente, por pérdida de material orgánico como azufre y fósforo de las proteínas, y pérdidas de sustancias volátiles como sodio, cloruros, potasio, fósforo y azufre (McDonald, et al., 1999).

La proteína bruta (PB) se calcula a partir de la cantidad de nitrógeno determinado de los alimentos, siendo la técnica de Kjendahl la utilizada, haciendo una digestión con ácido sulfúrico lo cual convierte en amoníaco todo el nitrógeno presente excepto aquel en forma de nitratos o nitritos; el amoníaco se libera al añadir hidróxido sódico, se destila y se recoge una solución normalizada de ácido, se determina la cantidad recogida por volumetría o un método colorimétrico automatizado; se considera que el nitrógeno es de origen proteico, siendo así que las proteínas contienen un 16 por ciento de nitrógeno, se multiplica la cantidad de nitrógeno por 100/16 y se obtiene la cantidad aproximada de proteína existente en el alimento, debido a que no corresponde a una proteína verdadera recibe este nombre.

La fracción de extracto etéreo (EE) se obtiene sometiendo al alimento a una extracción con éter de petróleo en un tiempo determinado, tras la extracción con el

solvente se obtiene el extracto etéreo siendo que además de lípidos se obtienen ceras, ácidos orgánicos, alcoholes y pigmentos. Los carbohidratos se obtienen por dos fracciones llamadas fibra bruta (FB) que incluye celulosa, lignina y hemicelulosas, dependiendo de la especie y fase de crecimiento se pueden incluir extractos libres de nitrógeno. La otra fracción es la correspondiente a los extractos libres de nitrógeno que es una mezcla de todos los componentes no determinados en las otras fracciones, además de los componentes mencionados se incluye azúcares, fructanos, almidones, pectinas, ácidos orgánicos y pigmentos (Church, et al., 2002).

En los métodos modernos de análisis de alimentos se expone una dura crítica al análisis inmediato de alimentos, sustituyéndolo por otros métodos de análisis; pero sobre todo a las fracciones correspondientes a fibra bruta y extractos libres de nitrógeno han sido las más criticadas (McDonald, et al., 1999).

Siendo así que Van Soest, et al., 1991 desarrollo otros métodos para el análisis de fibra. La fibra neutro detergente (FND) se compone principalmente de lignina, celulosa y hemicelulosa, pudiendo considerarse una medida de la pared de la célula vegetal. La fibra ácido detergente (FAD) es el residuo resultante del tratamiento con ácido sulfúrico 0.5 M y bromuro de acetiltrimetilamonio y se forma esencialmente por fracciones brutas de lignina y celulosa del material vegetal, aunque incluye también sílice (Van Soest, et al., 1991).

Carbohidratos

La palabra carbohidratos está ligada a aquellos carbohidratos con la fórmula empírica ($C_5H_{10}O_4$) que son los elementos Carbono, Hidrogeno y Oxígeno, pero incorrectamente puesto que algunos contienen fósforo, nitrógeno o azufre (McDonald, et al., 1999). Los carbohidratos son el componente principal de los vegetales hasta el 70%. Se considera carbohidratos a los polihidrocialdehídos, cetonas, alcoholes o ácidos, y compuestos sencillos que se hidrolizan para formarlos. Siendo así que los carbohidratos se dividen en dos grandes grupos azúcares y no azúcares. Estos a su vez se dividen los azúcares encontramos los

monosacáridos y los oligosacáridos; los no azúcares se dividen en carbohidratos complejos y polisacáridos dentro de estos encontramos los homoglicanos y dentro de estos están dos principales la celulosa y hemicelulosa (Church, et al., 2002).

Celulosa

Es el polímero sencillo más abundante en el reino vegetal, que forma la estructura fundamental de las paredes celulares de las plantas, se encuentra de forma casi pura en el algodón, tiene un alto peso molecular, debido a que la unidad que más se repite es la celobiosa (Church, et al., 2002).

Hemicelulosas

Son polisacáridos de la pared celular, estrechamente relacionados con la celulosa; están compuestas de D-glucosa, D-galactosa, D-manosa, D-xilosa y L-arabinosa en diversas combinaciones y con diversos enlaces glucosídicos; también pueden contener ácidos úronicos (Church, et al., 2002).

Lignina

No es un carbohidrato pero está estrechamente relacionado con este grupo de compuestos, ya que confiere resistencia química y biológica a la pared celular, y resistencia a las plantas. Es un polímero formado a partir de tres derivados del fenilpropano: alcohol cumarílico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico. Tiene especial importancia en la nutrición animal por su gran resistencia a la degradación química. La incrustación física de las fibras vegetales en la lignina, las hace inaccesibles a las enzimas que podrían digerirlas. Los productos leñosos, henos muy maduros y las pajas, son muy ricos en lignina, siendo su digestibilidad baja, a menos que se sometan a tratamientos químicos que rompan los enlaces que existen entre la lignina y los carbohidratos (Church, et al., 2002).

Lípidos

Se encuentran en tejidos vegetales y animales, actúan como portadores de electrones, transportadores de sustratos en las reacciones enzimáticas, como componentes de las membranas biológicas, y como reserva de energía. En vegetales existen dos tipos: estructurales y de reserva.

Los estructurales o superficiales son ceras, existiendo menores hidratos de carbono de cadena larga, ácidos grasos y cutina; los lípidos de reserva se encuentran en frutos, semillas y predominantemente en aceites. Las grasas y aceites forman parte de animales y vegetales como reserva energética aunque los puntos de fusión de los aceites tienden a ser más bajo.

Las grasas son ésteres de ácidos grasos con el alcohol trihídrico glicerol, denominándose también glicéridos o acilgliceroles.



La mayoría de los ácidos grasos naturales contienen un número par de átomos de carbono. Los ácidos grasos insaturados pueden tener doble enlace, dos, tres o más dobles enlaces. Los ácidos grasos con más de un doble enlace se denominan ácidos grasos poliinsaturados. Los ácidos grasos insaturados tienen puntos de fusión más bajos y son más reactivos; pueden tener configuración cis o trans dependiendo de la disposición en el espacio de los átomos de hidrógeno unidos a los átomos de carbono del doble enlace. Los ácidos grasos linoleico y α -linolénico se consideran ácidos grasos esenciales (AGE).

Al igual que otros ácidos poliinsaturados forman parte de distintas membranas y participan en el transporte de lípidos y ciertas enzimas lipoproteicas. Se ha demostrado que los AGE son necesarios en pollos, cerdos, terneros y cabras. En animales con raciones bajas de grasa, se observaron lesiones cutáneas y crecimiento lento, aunque en rumiantes se cubren las necesidades nutritivas de linoleico y α -linolénico a base de hierba. En el rumen tiene lugar una notable

hidrogenación de los ácidos grasos insaturados, con la consiguiente reducción global de los AGE disponibles. Es muy poco probable experimentar deficiencias de AGE.

El análisis de los distintos ácidos grasos se emplea por medio de las técnicas como cromatografía de gases, proporcionando una detallada información sobre la composición en ácidos grasos de la mayoría de las grasas. Ello permite una perfecta identificación y caracterización de las grasas constituyendo un método exacto para la valoración y estimación de posibles adulteraciones de grasas o aceites. En general, los aceites vegetales o de animales marinos son más insaturados que los de los animales mamíferos.

El ácido oleico es el ácido graso insaturado más abundante en la mayoría de las grasas naturales, en mamíferos existe una mayor proporción de ácidos grasos saturados como el palmítico, esteáricos, láurico y el mirístico. Por esta razón las grasas como la de manteca de cerdo, sebo, vacuno, ovino son más duras y consistentes (McDonald, et al., 1999).

Hidrólisis

Las grasas pueden hidrolizarse por medio de la saponificación. El proceso puede tener lugar de forma natural, por efecto de un grupo de enzimas llamadas lipasas, cuando se trata de la lipólisis. La molécula del ácido graso unido al átomo de carbono número 2 del acilglicerol, se elimina con más dificultad que los que se encuentran en las posiciones 1 y 3. Los productos de la lipólisis suelen ser mezclas de mono- y diacilgliceroles y ácidos grasos libres. La mayoría de estos ácidos son inodoros e insípidos, especialmente el butírico y el caproico, tienen un sabor y olor muy intensos, si tiene lugar dicha degradación se hace inaceptable al consumidor. Asimismo, la lipólisis precede a la hidrogenación de las grasas en el rumen y la oxidación de las grasas en el organismo (McDonald, et al., 1999).

Oxidación

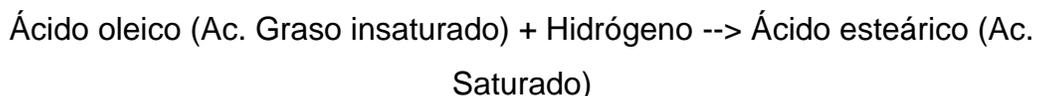
Los ácidos grasos insaturados se oxidan con facilidad formándose hidroperóxidos y estos se degradan formando productos de cadena más corta. Los productos de la oxidación están formados por ácidos grasos de cadena más corta, polímeros de ácidos grasos, aldehídos, cetonas, epóxidos e hidrocarburos. La oxidación de los ácidos grasos saturados da lugar a la presentación de intenso olor y sabor dulzón, denominado enranciamiento cetónico (Church, et al., 2002).

Antioxidantes

Las grasas naturales presentan cierto grado de resistencia a la oxidación, debido a la existencia de compuestos llamados antioxidantes. El más importante es la vitamina E, que protege a las grasas por aceptación preferencial de radicales libres (McDonald, et al., 1999).

Hidrogenación

Es el proceso por el cual se fija hidrógeno en los dobles enlaces de los ácidos insaturados de las grasas, convirtiéndolas en los análogos saturados. Ejemplo:



El endurecimiento se debe a que los ácidos grasos saturados tienen un punto de fusión más elevado. El endurecimiento tiene la ventaja de que prolonga el mantenimiento de la calidad de las grasas, ya que la eliminación de los dobles enlaces hace desaparecer los principales centros reactivos del producto. Las grasas de las raciones consumidas por los rumiantes experimentan, una hidrólisis en el rumen, que va seguida de la progresiva hidrogenación de los ácidos grasos insaturados libres, hasta el ácido esteárico. Explica la aparente contradicción de que siendo grasas de la ración altamente insaturadas, la grasa corporal de los rumiantes sea muy saturada (McDonald, et al., 1999).

Proteínas

Son compuestos orgánicos complejos de alto peso molecular, se encuentran en todas las células vivas, estando estrechamente relacionadas con las actividades que constituyen la vida de la célula. Al hidrolizar las proteínas mediante enzimas, ácidos o álcalis, se obtienen aminoácidos (Bondi & Drori, 1988).

Aminoácidos esenciales

Los animales no pueden sintetizar el grupo amino, para formar las proteínas, así que deben recibir los aminoácidos en la ración; en caso de los rumiantes, los microorganismos del rumen sintetizan todos los aminoácidos esenciales por lo que, teóricamente, esta clase de animales es independiente de su aporte en la ración una vez que se han establecido los microorganismos del rumen. No pueden lograrse los máximos ritmos de crecimiento o de producción de leche, si la ración no aporta los aminoácidos de una forma adecuada.

El envenenamiento por heno de avena se atribuye en cantidades altas, puesto que esto lo causan los nitritos encontrados en la avena verde (Bondi & Drori, 1988).

Vitaminas

Las vitaminas se definen como compuestos orgánicos, necesarios en pequeñas cantidades, para el normal crecimiento y mantenimiento en la vida animal. Sin embargo, esta definición no tiene en cuenta las importantes funciones que estas sustancias realizan en los vegetales, ni la importancia global en el metabolismo de los seres vivos. La mayoría de las vitaminas se destruyen por oxidación, este proceso se ve favorecido por el calor, la luz y presencia de ciertos metales como el hierro. Esto es importante puesto que es necesario un ideal almacenamiento de los alimentos para no afectar el contenido final de las vitaminas (Church, et al., 2002).

Minerales

La mayoría de los elementos minerales se encuentran en tejidos animales, se hallan porque se encuentran en las raciones de los animales, sin realizar funciones esenciales en el metabolismo animal. Para que un elemento mineral sea considerado esencial, se necesita comprobar que las dietas purificadas en las que falta el elemento provocan síntomas de deficiencia en los animales, y que dichos síntomas pueden curarse o prevenirse al incluir en la dieta experimental el elemento en cuestión (Church, et al., 2002).

Calcio

Es el elemento mineral más abundante en el organismo animal. Es componente importante de los huesos y dientes, en los cuales se encuentra el 99 por ciento del calcio total del organismo; además de ser el componente esencial de las células vivas y líquidos tisulares (Bondi & Drori, 1988).

Relación calcio-fósforo

Al administrar suplementos de calcio al ganado, es importante tener en cuenta la relación calcio: fósforo ya que las desviaciones de las relaciones normales pueden resultar tan perjudiciales como las deficiencias en cualquiera de los elementos. Se considera que la relación calcio: fósforo más adecuada para los animales explotados por el hombre oscila 1:1 y 2:1, aunque existen pruebas de que los rumiantes pueden tolerar relaciones más amplias, siempre que queden cubiertas las necesidades de fósforo. Las necesidades de calcio y fósforo de los rumiantes, en la publicación del Agriculture and Food Research Council's Technical Committee on Response to Nutrients se indica que, en determinadas circunstancias, las necesidades de fósforo pueden ser superiores a las de calcio (National Research Council, 2007) (Bondi & Drori, 1988).

Fósforo

Las funciones conocidas del fósforo en el organismo animal, son numerosas más que otros elementos minerales. La estrecha relación del fósforo y el calcio en el hueso, es importante. El fósforo se encuentra, además en fosfoproteínas, ácidos nucleicos y fosfolípidos; ya que este elemento realiza funciones vitales en el metabolismo energético. El contenido de fósforo del organismo es menor que el del calcio. El 99 por ciento es calcio y se encuentra en huesos y dientes, la cantidad de fósforo forma parte de dichas estructuras es aproximadamente del 80-85 por ciento del total (Church, et al., 2002).

Digestión

La digestión se define en términos sencillos como la preparación de los alimentos para la absorción. En un sentido amplio, incluye fuerzas mecánicas (la acción de masticar, las contracciones musculares del aparato digestivo), actividad química (HCL del estómago, bilis en el intestino delgado) o hidrólisis del alimento ingerido por enzimas que se producen en el tubo digestivo o por microorganismos que habitan en diversas porciones de éste. La función global de los diversos procesos consiste en reducir los alimentos a un tamaño molecular o a un estado de solubilidad que permita la absorción y el empleo por las células de los nutrientes individuales que se liberan en el proceso (Church, et al., 2002).

La mayoría de los componentes orgánicos de los alimentos se encuentran en forma de grandes moléculas insolubles, que ha de degradarse hasta compuestos más sencillos, para poder atravesar la membrana mucosa del tracto digestivo y llegar a la sangre y la linfa. El proceso de degradación, recibe el nombre de “digestión”, en tanto que el paso de los nutrientes digeridos a través de la membrana mucosa, se denomina “absorción”. Los procesos esenciales de la digestión pueden agruparse en mecánicos, químicos y microbiano. La actividad mecánica corresponde a la masticación y las contracciones musculares del tracto digestivo.

Las principales acciones químicas, se realizan por las enzimas segregadas en los diferentes jugos digestivos, las enzimas vegetales existentes en los alimentos naturales, pueden realizar funciones de menor trascendencia en la digestión de los mismos. La digestión microbiana de los alimentos, también enzimática, se lleva a cabo por bacterias y protozoos, microorganismos de especial importancia en la digestión de los rumiantes (McDonald, et al., 1999).

Digestión microbiana en los rumiantes

Los alimentos de los rumiantes, forrajes y alimentos groseros fibrosos, están formados principalmente por polisacáridos con enlaces β -glucosídicos, como la celulosa, que no pueden ser destruidos por las enzimas digestivas de los mamíferos; los rumiantes han desarrollado un sistema digestivo especial que supone la fermentación microbiana de los alimentos antes de quedar expuestos a sus propias enzimas digestivas (McDonald, et al., 1999).

Anatomía y fisiología de la digestión en los rumiantes

Los alimentos se mezclan con abundantes cantidades de saliva, en primer lugar, durante la ingestión y posteriormente en la rumia. Por término medio, el contenido del rumen incluye 850-930 g de agua/Kg, aunque suele encontrarse en dos fases una inferior líquida en las que se encuentran en suspensión partículas de menor tamaño de los alimentos y otra superior menos acuosa, en que se sitúan los productos sólidos más groseros. Cada bolo de alimento regurgitado es masticado 40-50 veces, de modo que la masticación es mucho más intensa que durante la ingestión.

El retículo- rumen proporciona un sistema de cultivo continuo para bacterias anaerobias y protozoos (así como algunos hongos). Los alimentos y el agua llegan al rumen, donde aquellos son parcialmente fermentados dando lugar a ácidos grasos volátiles, células microbianas, los gases metano y dióxido de carbono; los cuales se eliminan por eructación y los ácidos grasos volátiles se absorben a

través de la pared ruminal. En el intestino grueso existe una segunda fase de digestión microbiana.

Los ácidos grasos volátiles producidos en el intestino grueso también absorben, pero las células microbianas se excretan en las heces. Al igual que los demás sistemas de fermentación continua, el rumen precisa una serie de mecanismos homeostáticos. Los ácidos producidos durante la fermentación podrían, teóricamente, hacer descender el pH del líquido ruminal hasta 2.5-3.0; sin embargo en condiciones normales, el pH se mantiene entre 5.5-6.5. Los fosfatos y bicarbonatos de la saliva actúan como tampones; además la rápida absorción de los ácidos, facilitan el mantenimiento del pH. La presión osmótica del contenido ruminal se mantiene próxima a la de la sangre, merced al flujo de iones existente entre ambos.

El oxígeno que ingresa con los alimentos se utiliza rápidamente, manteniéndose la anaerobiosis. Ante la falta de oxígeno, el carbono es el aceptor final de los iones hidrógeno y de la formación de metano (Bondi & Drori, 1988).

Microorganismos del rumen

La población bacteriana en el contenido ruminal, es del orden de $10^9 - 10^{10}$ por ml. Se han identificado más de 60 especies. Puede considerarse que los microorganismos del rumen actúan conjuntamente, a modo de un consorcio, para atacar y degradar los alimentos. Puesto que la masa microbiana sintetizada en el rumen aporta, el 20 por ciento de los nutrientes absorbidos por el animal hospedador, es importante conocer la composición de los microorganismos (McDonald, et al., 1999).

Digestión de los carbohidratos

Las raciones de los rumiantes contienen cantidades abundantes de celulosa, hemicelulosas, almidones y carbohidratos hidrosolubles, en su mayor parte en forma de fructanos. Cada kilogramo de hierba tierna de pastos puede contener

unos 400 g de celulosa y hemicelulosas, y 200 g de carbohidratos hidrosolubles. En la hierba madura, así como en los henos y pajas, la proporción de celulosa y hemicelulosas es mucho mayor, y la de carbohidratos hidrosolubles es mucho menor. Todos los carbohidratos, pero no la lignina, son atacados por los microorganismos del rumen.

La degradación de los carbohidratos en el rumen puede dividirse en dos etapas, la primera de las cuales consiste en la digestión de los carbohidratos complejos hasta azúcares más sencillos. Las pentosas constituyen el principal producto de la degradación de las hemicelulosas, que se realiza por enzimas que hidrolizan los enlaces β 1-4 para producir xilosa y ácidos urónicos. La xilosa puede obtenerse por hidrólisis de xilanos. Los azúcares sencillos producidos en la primera fase de la digestión de los hidratos de carbono en el rumen se detectan en el líquido ruminal, ya que son recogidos inmediatamente y metabolizados por los microorganismos. En la segunda fase, las rutas seguidas son muy semejantes a las empleadas en el metabolismo de los carbohidratos en el propio animal.

El intermediario clave es el piruvato, puesto que las rutas que unen al piruvato con los principales productos finales de la digestión de los carbohidratos en el rumen, que son los ácidos acético, propiónico y butírico, dióxido de carbono y metano. Además pueden formarse ácidos grasos, por diseminación de aminoácidos en el rumen, se trata de isobutírico.

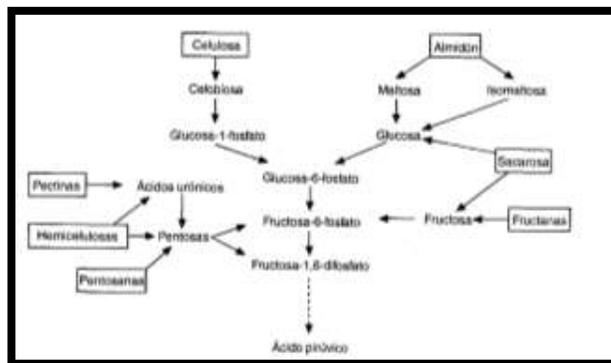


Imagen 1. Conversión de la celulosa y almidón a piruvato (McDonald, et al., 1999).

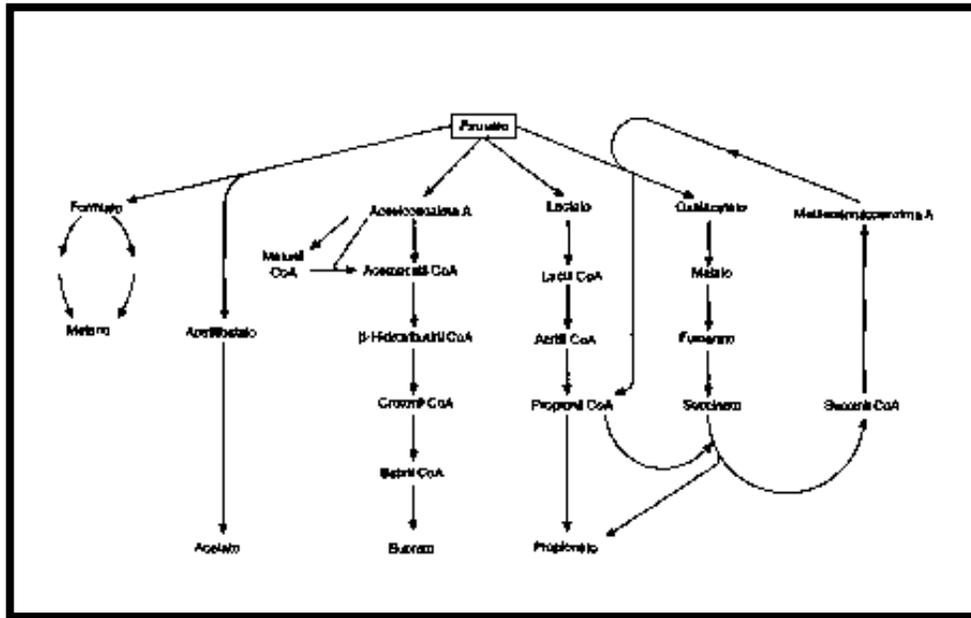


Imagen 2. Conversión de los carbohidratos del piruvato en el rumen
(McDonald, et al., 1999).

La ruta a través del lactato y acrilato predomina cuando las raciones de los rumiantes incluyen una alta proporción de concentrados, las rutas del succinato se siguen cuando las raciones están formadas principalmente por alimentos groseros fibrosos. El lactato puede acumularse en el rumen y amenazar con la presentación de acidosis. Los forrajes fibrosos maduros originan mezclas de AGV que contienen una elevada proporción de ácido acético. Los forrajes menos maduros tienden a producir proporciones algo menores de ácido acético y mayores de ácido propiónico.

La adición de concentrados hace aumentar la proporción de ácido propiónico a expensas del ácido acético. Con las raciones exclusivamente de concentrados, la proporción de propiónico puede incluso superar a la del acético. La cantidad total de ácido producidos, puede ser del orden de los 4 Kg al día, en la vaca gran parte de los ácidos producidos se absorbe directamente en el rumen, retículo y omaso, cierta cantidad puede pasar al omaso y absorberse en el intestino delgado; algunos productos de la digestión de los carbohidratos en el rumen, son utilizados por las bacterias y protozoos para formar sus propios polisacáridos celulares, las

cantidades que llegan al intestino delgado pueden ser escasas y tener poca importancia.

El ritmo de producción de gases en el rumen es muy rápido inmediatamente después de las comidas, pudiendo superar los 30 l/hora en la vaca. La composición normal de los gases ruminales es la siguiente: dióxido de carbono 40 por ciento, metano 30-40 por ciento, hidrógeno 5 por ciento, además de pequeñas y variables cantidades de oxígeno y nitrógeno. El dióxido de carbono se origina como subproducto de la fermentación y como resultado de la reacción de los ácidos orgánicos con el bicarbonato existente en la saliva. La reacción por la que se forma el metano es la reducción del dióxido de carbono por hidrógeno, procede del ácido fórmico.

Sin embargo, la metanogénesis es un proceso complicado en que intervienen el ácido fólico y la vitamina B_{12} . Por cada 100 gr de carbohidratos digeridos, se forman, aproximadamente 4.5 gr de metano, los rumiantes pierden cerca del 17 por ciento de la energía de los alimentos, en forma de metano. La magnitud de la digestión de la celulosa en el rumen, depende del grado de lignificación de los procesos vegetales. La lignina, así como la sustancia relacionada cutina, son resistentes al ataque por las bacterias anaerobias debido, a su bajo contenido de oxígeno y su estructura condensada. La lignina parece impedir la degradación de la celulosa.

En la hierba tierna se obtiene 50 gr de lignina/Kg de MS, puede digerirse el 80 por ciento de la celulosa, en los productos herbáceos más maduros, con 100 gr de lignina/Kg, la cantidad de celulosa digerida puede ser inferior al 60 por ciento. Las raciones de los rumiantes formuladas a base de cereales, pueden contener hasta 500 gr/Kg de almidones de los cuales, pueden fermentar en el rumen más del 90 por ciento, y los restantes en el intestino delgado. El descenso en el pH del líquido ruminal inhibe a los microorganismos que fermentan la celulosa, lo que se reduce la degradación de la celulosa.

El gran tamaño del rumen (10- 20 por ciento del peso vivo de los animales) permite la acumulación de alimentos, proporcionando el tiempo necesario para la

degradación de la celulosa, que es un proceso lento. Los movimientos del retículo rumen y la rumia, participan en la trituración de los alimentos, exponiéndolos al ataque de los microorganismos (McDonald, et al., 1999).

Digestión de las proteínas

Las proteínas de los alimentos son hidrolizadas por los microorganismos del rumen, hasta péptidos y aminoácidos, algunos de los cuales pueden degradarse hasta ácidos orgánicos, amoníaco y dióxido de carbono. Los ácidos grasos de cadena ramificada que se encuentran en el líquido ruminal, proceden de aminoácidos. El amoníaco producido, así como algunos péptidos sencillos y aminoácidos libres, son utilizados por los microorganismos atraviesan el abomaso y el intestino delgado, sus proteínas celulares son digeridas y absorbidas.

Un aspecto importante en la síntesis de proteína microbiana se refiere al hecho de que las bacterias pueden sintetizar todos los aminoácidos, esenciales y no esenciales, de modo que el animal hospedador obtiene estos últimos, independientemente de su presencia en la ración (Bondi & Drori, 1988).

Compuestos nitrogenados no proteicos

Aproximadamente el 30 por ciento del nitrógeno de los alimentos consumidos por los rumiantes, se encuentra en forma de compuestos orgánicos sencillos como aminoácidos, amidas y aminas o compuestos inorgánicos, como los nitratos. La mayoría de ellos, se degradan rápidamente en el rumen, entrando el nitrógeno en el pool de amoníaco. Es posible aprovechar la capacidad de los microorganismos del rumen para convertir los compuestos nitrogenados no proteicos en proteína, incluyendo estos productos en la ración (McDonald, et al., 1999).

Digestión de los lípidos

Los triacilgliceroles existentes en los alimentos consumidos por los rumiantes, contienen gran cantidad de restos de los ácidos grasos poliinsaturados de 18 átomos de carbono, linoleico y linolénico, estos se hidrolizan en alto grado en el rumen por las lipasas bacterianas, al igual que los fosfolípidos, una vez liberados

los ácidos grasos insaturados son hidrogenados por las bacterias, dando lugar al ácido monoenoico y al ácido esteárico. Tanto el ácido linoleico como el linolénico presentan dobles enlaces todo cis, pero antes de ser hidrogenados se convierten a configuración trans; siendo así que en el líquido ruminal se sintetizan grandes cantidades de lípidos que contienen ciertos ácidos grasos raros, que pueden aparecer en la leche y grasa corporal de los rumiantes.

La capacidad de los microorganismos del rumen para digerir los lípidos es muy limitada. El contenido en lípidos en las raciones de los rumiantes suele ser bajo (inferior a 50 gr/Kg), si supera los 100 gr/Kg, la actividad de los microorganismos del rumen es menor, la fermentación de los carbohidratos es más lenta y la ingestión de alimentos se reduce. Los ácidos grasos saturados afectan menos a la fermentación ruminal que los insaturados. Los ácidos de cadena larga, no se absorben directamente del rumen. Al llegar al intestino delgado, suelen encontrarse libres y saturados, pero algunos esterificados. La formación de micelas en el intestino de los rumiantes en el intestino de los rumiantes y la absorción de ácidos grasos de cadena larga, depende de los fosfolípidos existentes en la bilis.

Se ha indicado que es posible modificar la composición de las grasas corporales de los animales no rumiantes, variando la composición de las grasas de la ración. No obstante, puede tratarse los lípidos de la ración para que no sean atacados en el rumen, permaneciendo susceptibles a la hidrólisis enzimática y la absorción, en el intestino delgado, si estos lípidos contienen ácidos insaturados, la modifica la composición de las grasas corporales y lácteas (McDonald, et al., 1999).

Síntesis de vitaminas

Los microorganismos del rumen sintetizan todas las vitaminas de complejo B y la vitamina K; los rumiantes que reciben raciones suplementadas con complejo B la síntesis es pequeña; los rumiantes adultos son independientes de este aporte, la síntesis de la vitamina B₁₂, sólo se lleva a cabo si existe cantidad suficiente de cobalto (Church, et al., 2002).

Control y modificación de la fermentación en el rumen

A medida que las investigaciones han ido revelando los mecanismos de la digestión en el rumen, se han realizado intentos para alterar las pautas de la digestión con la finalidad de mejorar la nutrición de los rumiantes. El enfoque primario ha consistido en modificar la población microbiana para suprimir procesos no deseados. Un enfoque secundario ha consistido en proteger los nutrientes para evitar la fermentación en el rumen, con el objetivo de que se digieran en el intestino delgado.

El cambio de la población bacteriana introduciendo microorganismos específicos ha resultado difícil de conseguir y cuando se ha logrado, no se han obtenido ventajas nutritivas. El empleo de probióticos estimula la actividad bacteriana en el rumen, estabilizan el pH del rumen, incrementan la producción de propionato reduciendo la producción de acetato, y rebajan la producción de metano y amoníaco. El problema por resolver es la modificación del ecosistema del rumen para acomodar dichos microorganismos. Se ha comprobado que la población de protozoos del rumen es más susceptible a las modificaciones que la población bacteriana debido, a que los protozoos pueden eliminarse totalmente del rumen. Los rumiantes criados desde el nacimiento aislados de otros rumiantes no desarrollan la población de protozoos, además pueden erradicarse mediante un alto contenido de almidones, o administrando agentes defaunantes como el sulfato de cobre.

La contribución de los protozoos a la digestión del rumen, a la nutrición y productividad de los rumiantes ha sido una cuestión debatida, si no existen protozoos en el rumen, su actividad fibrolítica puede ser realizada por hongos, existen pruebas de que los protozoos realizan una función importante facilitando la absorción de los minerales calcio, magnesio y fósforo en el intestino. El objetivo final del control de las fermentaciones del rumen, consiste en limitar la actividad de los microorganismos a los componentes de la ración que el hospedador no puede digerir con sus propias enzimas o utilizar sin la intervención microbiana.

La estrategia para lograr este objetivo se basa en la protección de los demás nutrientes de los ataques en el rumen. Las tácticas para la protección de los nutrientes del ataque en el rumen suelen basarse en el tratamiento químico de los alimentos. El tratamiento con taninos o formaldehído modifica la estructura de las proteínas que impide el ataque microbiano, pero permite la digestión por las enzimas digestivas de los mamíferos. Los intentos realizados para prolongar esta eficiente distribución durante la vida adulta de los rumiantes, se ha logrado experimentalmente, pero carecen de interés práctico por el precio alto de la leche o los sustitutos lácteos (McDonald, et al., 1999).

Metabolismo energético

Es la capacidad para realizar trabajo. La energía radiante se utiliza por los vegetales verdes para producir sustancias complejas, quedando almacenada de ese modo. Al consumir los animales los productos vegetales, los componentes se degradan, liberando energía, que es empleada por los animales para realizar trabajo mecánico, transporte, mantenimiento de la integridad de las membranas celulares, procesos de síntesis y para proporcionar calor si las condiciones ambientales son frías (Church, et al., 2002).

Forrajes

Henos

El heno de pasto o leguminosas, se cultiva y se cosecha casi en exclusiva para el uso animal. Aunque la elaboración de heno es el método de conservación de cultivos verdes más común, su importancia relativa ha disminuido un poco en los últimos años por el aumento en el uso del picado verde (alimento de plantas recién cortadas) y cultivos de forraje en ensilados. La intención usual en la henificación es cosechar el cultivo en la etapa óptima de madurez para obtener la máxima producción de nutrientes por unidad de superficie sin dañar el siguiente cultivo.

Para hacer buen heno, el contenido de agua del material vegetal se debe reducir a un nivel suficientemente bajo para que permita su almacenamiento sin que se

eche a perder o haya cambios nutricionales marcados. El contenido de humedad del forraje verde puede variar de 65 a 85 por ciento o más, dependiendo de la madurez y de la especie de las plantas. Para que el heno almacenado se conserve satisfactoriamente, el contenido de agua se debe reducir a 15 por ciento o menos (Church, et al., 2002).

Heno de Avena

La Avena es un cereal procedente de Asia menor. Las variedades más utilizadas son de tipo hexaploide, principalmente Avena sativa. El cultivo se adapta a climas fríos y soporta una elevada acidez del suelo, también se comercializan híbridos con ecotipos espontáneos con un 20-25% de proteína (FEDNA, 2016).

Las avenas representan sólo el 4.5% de la producción mundial total de granos de cereales y la mayoría de la producción se concentra en Europa y América. El contenido de proteína de las avenas es relativamente alto y la distribución de aminoácidos es más favorables que en el maíz; la cascarilla es bastante fibrosa y se digiere muy poco. Aunque se muele, el resultado del alimento es muy poco voluminoso. Si se incluye en un gran porcentaje no se permite la ingestión de alimento óptima. En rumiantes, la avena es un alimento favorecido para los animales de reproducción, que les gusta. Sin embargo las avenas no proporcionan suficiente energía para una ganancia máxima de peso en el ganado de engorda intensiva. La avena sin cascarilla tiene un valor nutritivo comparable al del maíz, pero el precio no es favorable para el uso animal (Church, et al., 2002).

El heno de avena es uno de los más adecuados para ayudar al desgaste de los dientes y mejorar la digestión, actúa como antioxidante y potenciador del sistema inmunitario, pero destaca por su aporte en glucosa y hierro que ofrece (Ribero, 2014).

Heno de Alfalfa

La alfalfa (*Medicago sativa*) es una planta perteneciente a la familia de las leguminosas (Fabaceae). Es un cultivo forrajero plurianual con un excelente potencial productivo, cuya duración en el campo es de 3-4 años, practicándose varios cortes por año. Ocupa el 22% de la superficie destinada a los forrajes. Se cultiva mayormente en regadío (65%), aunque bien adaptado, se destina cada día más a la producción intensiva asociado a la deshidratación. Debido a la deshidratación se considera que la alfalfa sufre un proceso tecnológico importante y se considera que esta materia prima incorpora a los piensos compuestos, se incorpora a ser más una materia prima que un forraje.

El proceso de henificación de la alfalfa es un método de conservación bien conocido. El principal problema de la henificación es la lluvia durante el secado de esta planta que disminuye el valor nutritivo de este forraje por lavado de solubles. Unido a la pérdida de hojas, hace que se reduzca su valor proteico, por lo que el valor nutritivo de un heno puede distanciar mucho de la planta original (FEDNA, 2016).

Rastrojos

Los residuos de cosecha llamados rastrojos, esquilmos, pajas, zacate, pastura, clazol y basura desempeñan un papel preponderante en los sistemas mixtos agrícolas y pecuarios en el mundo. Los rastrojos o residuos de cosecha de cultivos agrícolas, principalmente granos, tienen dos usos fundamentales: el primero es que constituye un insumo para la alimentación de rumiantes, ya sea en pastoreo directo, o cortado, picado, y empaquetado, suministrado como suplemento en la dieta de los animales; y la segunda son la principal fuente de cobertura del suelo en la agricultura en laderas y es una de las tecnologías más efectivas para regular la humedad y temperatura del mismo, amortiguar la erosión hídrica, controlar la maleza y aportar materia orgánica (MO) y nutrientes al suelo (Reyes Muro, et al., 2013).

En México es común la utilización del rastrojo de maíz como alimento para rumiantes, pese a que posee mundial en los últimos años, a medida que la disponibilidad de granos se reduce. Es también importante la competencia nula entre monogástricos y rumiantes por alimentos fibrosos y, la habilidad que tienen los rumiantes para convertir esos materiales fibrosos en productos útiles para el hombre (carne, leche, pieles, lana, etc.). En México se producen alrededor de 70 millones de toneladas de residuos agrícolas de las cuales el rastrojo de maíz, de sorgo y paja de trigo, representan 58; 12 y 15%, respectivamente (INEGI , 1997).

Existen estudios relacionados con los “esquilmos de cosecha” y sus formas de uso en la alimentación animal, se destaca la importancia de la contribución de los rastrojos y se reconoce su pobre aportación nutricional, este tema ha dado lugar a investigaciones sobre métodos que permitan mejorar la aportación nutrimental y la digestibilidad de los rastrojos así como facilitar su uso en la alimentación animal (Reyes Muro, et al., 2013).

Rastrojo de Maíz

El maíz (*Zea mays*) en áreas donde crece bien el maíz produce más nutrientes digeribles por unidad más que cualquier otro cultivo de granos. La producción de maíz en pequeñas parcelas ha alcanzado más de 11 toneladas. El maíz es un alimento muy digerible. Los granos se cosechan y desgranar en forma mecánica. Se ha estudiado la composición química donde la zeína, es una proteína que se encuentra en el endospermo, constituye la mitad de la proteína total que se encuentra en el grano de la mayoría de las variedades. Esta proteína tiene pequeñas cantidades de muchos aminoácidos esenciales pero en especial lisina y triptófano, el contenido nutricional de proteína es deficiente en animales no rumiantes.

La fertilización con N aumenta el contenido de proteína y disminuye la calidad de la proteína, el valor energético es de 100, tiene un contenido mayor en carotenos y xantofilas, precursores de la vitamina A, buenas fuentes de vitamina E, pocas del grupo B y carecen de vitamina D; rico en grasa, amilosa, gluteína y lisina (Church,

et al., 2002). Se estima que por cada kilogramo de grano producido se obtiene 1 Kg de residuo.

El rendimiento de rastrojo en la producción agrícola, depende de diversos factores, como son: tipo de suelo, clima, manejo agronómico, disponibilidad de agua y variedades sembradas (Reyes Muro, et al., 2013).

Pastos

Los pastos son, la familia de plantas más importantes para los humanos desde el punto de vista agrícola porque la familia de los pastos no sólo incluye a todas las especies silvestres y cultivadas que se usan para el pastoreo y la cosecha de forrajes, también a las especies cultivadas de cereales y sorgo. Sin embargo, en esta sección sólo nos interesan los pastos como forraje y no se les considera desde el punto de vista agrícola. El análisis es muy general debido a la gran cantidad de pastos que son importantes.

Como alimento para los animales de pastoreo, el pasto tiene muchas ventajas. La mayoría de las especies de pasto tienen bastante aceptabilidad cuando están inmaduros y sólo pocas, como algunos sorgos al volver a crecer después de helarse (toxicidad por HCN), son muy tóxicos durante una buena parte de la temporada de pastoreo. Los pastos de muchas especies tienen la capacidad de crecer en la mayoría de los ambientes donde los herbívoros pueden sobrevivir (las regiones árticas son la excepción notable).

Además, los nutrientes que aportan los pastos proporcionan apenas las cantidades necesarias que requieren los animales durante un ciclo vital anual de reproducción y producción en medios semitropicales y tropicales. Por supuesto, a mitad del invierno en los climas fríos, se necesitan forrajes cosechados para mantener la producción animal todo el año (Church, et al., 2002).

Pasto Kikuyo

El Pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) es una planta perenne, estolonífera y rizomatosa, de 30 o 40 cm de altura. Los estolones son ramificados y aplanados.

La vaina de la hoja es de color amarillo pálido verdoso. Inflorescencia reducida a un grupo de 2-4 espiguillas, casi encerrada en la vaina de la hoja. Espiguillas de 10-20 mm de largo, comprende dos flores, filamentos delgados de 50 mm de largo, con anteras 5-7 mm de largo. Cariópsides ovoides, de color marrón oscuro, de unos 2,5 mm de largo y 1,5 mm. Posee un sistema radicular profundo.

Se reproduce por semillas. Puede haber problemas de intoxicación por *Pennisetum clandestinum*. El envenenamiento por nitritos sucede cuando hay un crecimiento exuberante de esta especie, lo que provoca una acumulación de nitrógeno, esto puede causar hinchazón. Puede causar hiperparatiroidismo en los caballos y en ocasiones nefrosis o hipocalcemia en rumiantes, altas concentraciones de oxalato pueden ser la causa. El envenenamiento se puede presentar esporádicamente en el ganado cuando el rápido crecimiento de la especie sigue a un periodo de sequía prolongado.

Cuando la lluvia es superior a 20 mm, y está sometida a temperaturas superiores a los 14 ° C el pasto es invadido por gusanos lo que puede ocasionar intoxicación cuando se consume. Se han reportado muertes ocasionales de ganado vacuno, ovejas, cabras y caballos por envenenamiento causado por *Pennisetum clandestinum* en Nueva Zelanda, Sudáfrica y Australia (Método de Evaluación Rápida de Invasividad (MERI) para especies exóticas en México , 2016).

Tomillo (*Thymus vulgaris*)

El género *Thymus* pertenece a la familia de las labiadas, es de clima templado y originario de los países de la cuenca mediterránea occidental. Crece sobre suelos secos y soleados y resiste bien las heladas y sequías. Presenta una gran diversificación en subespecies. Se trata de una planta aromática (su nombre genérico proviene del verbo griego *Thym*, en alusión a su intenso y agradable aroma), vivaz, leñosa, de 10-40 cm de altura y muy ramificada.

Las hojas, de 3-8 mm, son lineares, oblongas, sentadas o brevemente pediceladas, opuestas, tomentosas, sin cilios, con el pecíolo o sus márgenes

revueltos hacia abajo y blanquecinas por su envés. Las flores son axilares y están agrupadas en la extremidad de las ramas, formando una especie de capítulo terminal, a veces con inflorescencia interrumpida. Las brácteas son verde-grisáceas, el cáliz, algo giboso, con pelos duros, con tres dientes en el labio superior, cortos, casi iguales y dos en el inferior, muy agudos, más largos, con pelos en sus bordes y de color rojizo.

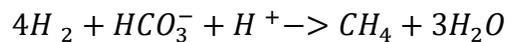
La corola, un poco más larga que el cáliz, con el labio superior erguido y el inferior trilobulado y de color blanquecino o rosado. Los 4 estambres sobresalen de la corola y el fruto es un tetraquenio, lampiño, de color marrón. Es una especie muy variable, tanto en su fenología como en la composición química de su aceite esencial, en el que ya se han detectado 7 quimiotipos.

Esto ha dado lugar a confusiones taxonómicas en este género, ya que se han considerado como especies distintas a sus variedades o ecotipos. En sus actividades farmacológicas destacan la actividad antiespasmódica y expectorante, antiséptica, béquica, antihelmíntico, antiinflamatoria, eupéptica, antioxidante y estrogénica. Contiene flavonoides, como luteolina, apigenina, naringenina, eriodictol, cirsilineol, salvigenina, cirsimaritina, timonina y timusina, entre otros. Otros componentes también destacables son los ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico (ácidos cafeico y rosmarínico), triterpenos (ácidos ursólico y oleanólico), saponinas, taninos y un principio amargo (serpilina) (Elsevier, 2006).

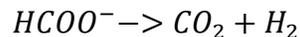
Producción de Metano

El metano formado en el rumen parece ser un subproducto necesario en la fermentación anaerobia de los azúcares. Teniendo en cuenta el alto valor energético del metano, su expulsión es una lamentable e inevitable pérdida de energía por parte de los carbohidratos administrados a los rumiantes. El metano se produce en el rumen por reducción del dióxido de carbono con hidrógeno

gaseoso, reacción realizada por todas las especies de bacterias en el rumen, de acuerdo a la siguiente ecuación:

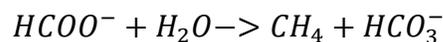


El dióxido de carbono procede de la conversión del piruvato en acetato. La degradación de los azúcares hasta ácido pirúvico, y la subsiguiente conversión del ácido pirúvico en acetato, son las fuentes de hidrógeno. A partir del ácido fórmico se forman cantidades menores de hidrógeno y dióxido de carbono, por medio del enzima fórmico deshidrogenasa:

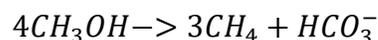
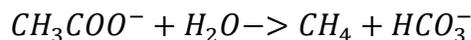


El ácido fórmico se produce en el rumen en la conversión del ácido pirúvico hasta acetato. La mezcla de ácidos grasos volátiles en el rumen contiene, aproximadamente 1% de ácido fórmico. El hidrógeno es utilizado con mucha rapidez por las bacterias productoras de metano, sirviendo también como donante de hidrógeno para otros procesos reductores de los microorganismos. Por consiguiente, el hidrógeno se mantiene en el rumen a muy baja presión, con objeto de mantener las condiciones más favorables para el crecimiento de los microorganismos. Ciertas especies de bacterias ruminales forman metano siguiendo los dos procesos siguientes:

1. El formiato se descompone rápidamente en metano y dióxido de carbono



2. Otros precursores de metano de menor importancia son el acetato y el metanol formado por la degradación de las pectinas



La producción de metano por los microorganismos es un complicado proceso bioquímico en el que participan el ácido fólico y la vitamina B_{12} . Puesto que el metano no puede metabolizarse por el animal, su producción va ligada a una notable pérdida de energía, se han buscado medios para reducir la producción de metano y destinar la energía a compuestos metabolizables por el animal. Se ha sugerido la adición de ácidos grasos insaturados a la ración; estos ácidos se saturarían por efecto de los microorganismos.

Para ello se necesita que el hidrógeno, de modo que sería una buena forma de reducir la cantidad de metano formado en el rumen y provocar una elevación en la producción de propionato. Existen otros aditivos de los piensos que reducen la producción de metano, cloroformo, hidrato de coral, y sales de cobre; no obstante se ha comprobado que estos productos no son inhibidores específicos de la producción de metano, si no que limitan el crecimiento de los microorganismos en general.

La producción masiva de gases (metano, hidrógeno y dióxido de carbono) más allá de los límites de la eructación, determina el timpanismo. Existen cantidades exageradas de azúcares libres en la hierba de pastos tierna y succulenta o en la remolacha azucarera y sus subproductos. El timpanismo es un trastorno potencialmente fatal (Bondi & Drori, 1988).

Bacterias Metanogénicas

Las bacterias metanogénicas abundan en ambientes donde limitan aceptadores de electrones tales como O_2 , NO_3^- , Fe^{3+} , y SO_4^{2-} . Digestores anaerobios, sedimentos anóxicos, suelos de humedales y tractos gastrointestinales son hábitats típicos para encontrar estos microorganismos.

Características generales:

- Producen grandes cantidades de metano como producto principal de su metabolismo energético

- Todos son anaerobios estrictos
- Son miembros del Grupo Arquea (arqueobacterias)

Tabla 3 Características generales de las principales familias de bacterias metanogénicas.

Familia	Características
Metanobacteriaceae	Bacilos largos o cortos; utilizan H ₂ y CO ₂ y algunas formato o alcoholes como sustratos para metanogénesis; cocos que utilizan sólo H ₂ o metanol, la mayoría son Gram positivos; contienen pseudomureína; no móviles; contenido de GC, 23-81%
Metanotermaceae	Bacilos; los sustratos para metanogénesis son H ₂ y CO ₂ ; Gram positivos; contienen pseudomureína; no móviles; termofílicos extremos; contenido de GC, 33-34%
Metanococcaceae	Cocos irregulares; los sustratos para metanogénesis son H ₂ + CO ₂ y formato; Gram negativos; móviles; contenido de GC, 29-34%
Metanomicrobiaceae	Bacilos, espirilos, placas o cocos irregulares; utilizan H ₂ y CO ₂ algunos formato o alcoholes como sustratos para metanogénesis; Gram negativos; móviles y no móviles; contenido de GC, 39-81%
Metanocorpusculaceae	Pequeños, cocos irregulares; utilizan H ₂ y CO ₂ y algunas formato o alcoholes como sustratos para metanogénesis; Gram negativos; móviles y no móviles; contenido de GC, 48-52%
Metanosarcinaceae	Pseudosarcina, cocos irregulares; utilizan H ₂ y CO ₂ , acetato, compuestos metílicos como sustratos para metanogénesis, nunca formato; cocos que utilizan sólo H ₂ o metanol; la mayoría son Gram positivos o negativos; frecuentemente no móviles; contenido de GC, 36-52%

(UPRM, 2015)

Prácticas de mitigación de gases de efecto invernadero

Las prácticas de mitigación para los rumiantes porque la emisiones de los Gases de Efecto Invernadero (GEI) de estas especies representan más del 75 por ciento del total de las emisiones de CO₂ provenientes del ganado (Alexander, et al., 2013). Se evaluaron las prácticas de mitigación en los siguientes ámbitos:

1. Fermentación entérica
2. Estiércol y gestión del estiércol
3. Crianza de los animales (Steinfeld, et al., 2009).

Fermentación entérica

El CH₄ y el CO₂ son subproductos naturales de la fermentación microbiana de los carbohidratos y, en menor medida, de los aminoácidos (AA) en el rumen y el intestino grueso de los animales de granja. El metano se produce en condiciones estrictamente anaeróbicas por procariontes metanógenos altamente especializados, los cuales son todas arqueas. En los rumiantes, la mayor parte del CH₄ entérico se produce en el retículo-rumen (Muñoz , et al., 2012). Las emisiones rectales representan alrededor del 2 al 3 por ciento del total de las emisiones de CH₄ de ovejas o vacas lecheras. Se estimaron que del 13 por ciento del CH₄ entérico total producido en el intestino grueso de ovejas, sólo el 11 por ciento se excreta a través del ano y el 89 por ciento restante se elimina por los pulmones (Murray , et al., 1976).

Suplementos alimenticios

Inhibidores

La investigación en esta área se ha centrado en los compuestos químicos con un efecto inhibitorio específico sobre las arqueas de rumen. Entre los compuestos más exitosos probados in vivo se encuentran el bromoclorometano (BCM), el 2-bromoetano sulfónico (BES), el cloroformo y la ciclodextrina. Estos inhibidores redujeron la producción de CH₄ hasta en un 50 por ciento in vivo (en ovejas, cabras y vacunos) (Mitsumori, et al., 2011) (Immg, et al., 1996).

Aceptores de electrones

Esta categoría de agentes de mitigación del CH₄ ha tenido recientemente una renovada atención. Los agentes más estudiados han sido el fumarato, los nitratos, los sulfatos y el nitroetano. Investigaciones más recientes con ovejas y con bovinos han mostrado resultados promisorios para los nitratos, con los que se ha logrado disminuir la producción de CH₄ entérico hasta en un 50 por ciento (Gutierrez Banuelos, et al., 2007) (Brow, et al., 2011).

Ionóforos

La monensina ha sido el ionóforo más estudiado y se usa rutinariamente en la producción de carne y más recientemente en la nutrición de bovinos de leche en Norte América. Los ionóforos son prohibidos en la Unión Europea a pesar de que no hay evidencia de genes que codifiquen su resistencia, como existe en otros antibióticos administrados en los alimentos. Algunos estudios han reportado un efecto a largo plazo de la monensina en la reducción de la producción de CH₄, en general, el efecto del ionóforo parece ser inconsistente. En un metaanálisis de 22 estudios controlados, la monensina (a una dosis de 32 mg/kg MS) redujo las emisiones de CH₄ y la tasa de conversión del CH₄ (Russell & Houlihan, 2003).

Compuestos bioactivos de las plantas (CBAP)

Se comprende una variedad de compuestos secundarios de las plantas, específicamente taninos, saponinas, aceites esenciales y sus ingredientes activos. Los taninos y las saponinas que han sido ampliamente estudiados muestran el potencial de mitigación más promisorio dentro de esta categoría. Los taníferos como suplementos alimenticios o como plantas taníferas han mostrado con frecuencia, aunque no siempre, que tienen un potencial de hasta 20 por ciento para reducir las emisiones de CH₄ entérico (Beauchemin, et al., 2007).

Los taninos hidrolizables y condensados son componentes bioactivos de plantas que pueden ofrecer una oportunidad para reducir la producción de CH₄ entérico, aunque la ingestión de los alimentos y la producción animal se podrían ver comprometidas. Las características agronómicas de los forrajes taníferos deben ser consideradas cuando se analizan como una opción de mitigación de los GEI. Las saponinas del té parecen tener potencial, pero se requieren más estudios realizados a largo plazo antes que su uso pueda ser recomendado. La mayor parte de los aceites esenciales o sus ingredientes activos no disminuyen la producción de CH₄ y en los casos en que la disminución se produjo in vivo, no se

establecieron sus efectos a largo plazo (Niezen, et al., 1995) (Niezen, et al., 1998) (Terrill, et al., 1992).

Lípidos dietéticos

Existen gran evidencia de que los lípidos (aceites vegetales o grasas animales) suprimen la producción de CH_4 en el rumen. Los efectos de los lípidos en las arqueas del rumen no son aislados de su efecto supresor general sobre las bacterias y los protozoos. Varios trabajos han tratado de elaborar factores de predicción para los efectos de los lípidos dietéticos en el CH_4 del rumen. Se han observado una reducción del 9 por ciento en la producción de CH_4 en vacas lecheras (Eugène, et al., 2008). El mayor efecto inhibitor de los AG insaturados con respecto a los saturados en la actividad microbiana de rumen parece que no se aplica a la producción de CH_4 en la mayoría de los estudios, se observó un efecto de mitigación más elevado de los AG poliinsaturados (Rabiee, et al., 2012).

La biohidrogenación de estos ácidos también puede actuar como sumidero de H_2 , pero hay indicaciones de que solo el uno o dos por ciento del H_2 metabólico del rumen se usaría con este propósito. Un estudio con vacas lecheras en pastoreo, examinaron el efecto de los aceites vegetales y de pescado en la producción de la leche y en las emisiones de CH_4 , en experimentos de corto y largo plazo. Los lípidos redujeron significativamente la producción de CH_4 en el experimento a corto plazo, pero este efecto no se observó después de las 11 semanas de suministro de lípidos en el experimento a largo plazo.

Además los lípidos no aportaban beneficios en la producción de leche. Algunos estudios han reportado efectos a largo plazo del aceite en la dieta, pero son inconsistentes (Czerkawski & Clapperton, 1984).

Enzimas exógenas

No hay evidencia de un efecto directo de estas preparaciones en la producción de CH_4 en el rumen, pero, según algunos estudios, parece que mejoran la

digestibilidad de la dieta y la producción animal. Las respuestas, sin embargo, son inconsistentes y no hay una comprensión total de los factores que inciden en estas respuestas (Grainger & Beauchemin, 2011).

Agentes microbianos en la alimentación

La adición de agentes microbianos (AM) en forma directa es una práctica de alimentación suplementaria común en la producción animal. Probablemente los AM más usados en la nutrición de rumiantes son los productos basados en levaduras (PL). Existe una gran variedad de productos disponibles comercialmente que se ajustan a la descripción de PL que incluyen: levaduras vivas (levaduras vivas altamente concentradas), cultivo de levaduras (células de levaduras con diferente viabilidad y su medio de crecimiento o productos de levaduras (Fonty & Chaucheyras-Durand, 2006).

Desfaunación

Se han establecido asociaciones y alimentación cruzada entre los protozoarios y las arqueas del rumen (Finlay, et al., 1994) y sobre la base de estas relaciones se ha propuesto la desfaunación como estrategia de mitigación del CH₄. Sin embargo, la respuesta en la producción de CH₄ a la desfaunación parcial o completa ha sido variable (Hristov & Jouany, 2005).

Manipulación de las arqueas y de las bacterias del rumen

Se han realizado esfuerzos considerables para la supresión de las arqueas y para favorecer el crecimiento de bacterias acetogénicas en el rumen. Las vacunas contra las arqueas se basan en el concepto de un suministro continuo de anticuerpos al rumen a través de la saliva (Shu, et al., 2001).

Las vacunas contra las arqueas han sido exitosas *in vitro* (Wedlock, et al., 2010) sin embargo, la producción de CH₄ medida después de la segunda y tercera vacunación fue 20 y 18 por ciento más alta, respectivamente, que aquella de la

muestra testigo, pero la diferencia no fue estadísticamente significativa (Clark, et al., 2004).

Estiércol y gestión del estiércol

La gestión del estiércol hace referencia al acopio y recolección de los excrementos animales en edificaciones, al almacenamiento y procesamiento y a la aplicación en los cultivos (Alexander, et al., 2013).

Crianza de los animales

Se examinan las opciones para reducir la IE mediante el aumento de la productividad del hato, del mejoramiento de la sanidad animal y de la longevidad, mientras se mantiene constante la producción de los GEI (o aumentan en menor proporción que el incremento de la productividad) (Alexander, et al., 2013).

Método *in vitro*

La técnica de producción desarrollada por (Menke & Steingass, 1998), es el resultado de la fermentación de carbohidratos y con producción de ácidos grasos volátiles (ácido propiónico, butírico y acético) y gases CO₂ y CH₄. La producción de gas por la fermentación de proteína relativamente menor en comparación con la fermentación de carbohidratos (Getawech, et al., 1988).

La producción de gas se determinó en un frasco de 100 ml, una serie con tres réplicas del mismo contenido utilizando el método propuesto por (Theodorou, et al., 1994). Se pondrán 3 repeticiones de frascos con los diferentes sustratos a diferentes niveles de inclusión, se pondrán 3 frascos estándar por sustrato y se ponen 3 frascos totales con muestras blanco.

Se obtiene una muestra representativa de las diferentes materias primas que en nuestro caso es Heno de Avena (*Avena sativa*), Heno de Alfalfa (*Medicago sativa*), Rastrojo de Maíz (*Zea mays*) y Pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y se

pondrán en frascos de 120 ml previamente identificados, con una cantidad de 0.8000 gramos (± 0.0005). Se harán las siguientes soluciones:

- Solución de microminerales (para 100 ml): (13.2 g de $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$) + (10 g de $\text{MnCl}_2 \times 4 \text{H}_2\text{O}$) + (1 g de $\text{CoCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$) + (0.8 g $\text{FeCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$)
- Solución Tampón (para 1 L): (35 g de NaHCO_3) + (4 g $(\text{NH}_4) (\text{HCO}_3)$)
- Solución de macrominerales (para 1 L): (5.7 g de Na_2HPO_4) + (6.2 g de KH_2PO_4) + (0.6 g de $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$)
- Resazurina 0.1% (para 100 ml): 0.1 g de Resazurina.

Se deben mantener estas soluciones en refrigeración (Resazurina no necesariamente), al mezclar los ingredientes se calentarán a 38 °C y se burbujeará con CO_2 . Para realizar la saliva artificial (para 1 L), se mezclarán en el siguiente orden las soluciones: 500 ml de H_2O , 0.13 ml de Sol. Microminerales, 249 ml de Sol. Tapón, 1.28 ml de Resazurina, 237 de Sol. Macrominerales; por último emplear el 3% de L-cisteína $\text{HCl} \times \text{H}_2\text{O}$ (0.5 g en 1 L) (Theodorou, et al., 1994). Se hacen bolsas con filtros previamente identificados y pesados de todos los frascos excepto los frascos blancos (Aguilar López, et al., 2013).

Se extrajeron 600 ml líquido ruminal a 6 cabras adultas donadoras (23 PV \pm Kg), con una dieta 50% heno de alfalfa y 50% heno de avena, dos horas después de la primera alimentación del día, esto se hará por medio de una sonda orogástrica, un matraz de Erlenmeyer con una salida y una bomba de vacío, se pondrán en un contenedor térmico (39 °C) preservando las condiciones de anaerobiosis e iluminación, se llevarán al laboratorio donde se filtrará por dos capas de gasa y se pondrán en baño maría con suministro constante de CO_2 hasta el momento del cultivo. En los frascos previamente con materia prima se les pondrá 90 ml de saliva artificial y 10 ml de líquido ruminal, a los cuales se les pondrá una inclusión de extracto de Tomillo, para cada ingrediente con ayuda de pipetas automáticas; los frascos blanco solo se les pondrá 90 ml de saliva artificial y 10 ml de líquido ruminal (Theodorou, et al., 1994).

Tabla 4. Niveles de Inclusión de Extracto de Tomillo en los diferentes ingredientes que conforman la dieta.

Ingrediente/Porcentaje de inclusión de extracto	Heno de Avena	Alfalfa	Rastrojo de Maíz	Pasto Kikuyo
% de Inclusión de extracto de Tomillo	0	0	0	0
	6	6	6	6
	12	12	12	12
	18	18	18	18

Se pondrán los frascos a baño de agua se estarán agitando constantemente las primeras 3 a 4 horas y durante la incubación cada vez que se mida la presión; con ayuda de un transductor de presión se medirá y registrará los PSI de cada uno de los frascos después de la incubación a 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 60 y 72 horas. Al terminar la incubación se realizarán una serie de cálculos para conocer la producción real de la portada muestra incubada, para ello utilizamos un estándar (Std) (ej. Heno de Avena), previamente incubado y del cual se conoce la producción de gas, además de frascos sin sustrato (blancos, blk) (Aguilar López, et al., 2013).

Con ayuda de las bolsas filtro, bomba de vacío y una pizeta con agua destilada se quitara el residuo del sustrato, este último quedara en los filtros, y se pondrá en la estufa a secar por 48 horas, pasadas estas horas se pesarán y registraran los datos para materia orgánica (MO).

Cálculo de Corrección de Blancos

Sin estándar: se resta el valor medio de los blancos (GPblk) de cada lectura para cada hora (GPX), y se obtiene la media.

Con dos estándares: se resta los GPblk de las GPX y de los estándares, se refiere a la producción de gas de ambos estándares a una cantidad de muestra fija de 800 mg MS (GPstd). Para validar la serie de incubación, se divide el valor contrastado de cada estándar con el obtenido en la serie. Si este valor (Fstd es mayor a 1.1 o menor a 0.9, se deberá repetir la serie. Para calcular la producción de gas (GP, ml/800 mg MS).

$$GP = (GPX - GP_{Oh} - GP_{blk}) \times 800 (F_{std 1} + F_{std 2}) / 2 \times \text{mg muestra}$$

Una vez obtenidos los resultados, para compararlo se puede establecer la curva de degradación del alimento contra el tiempo utilizando la ecuación propuesta por (Krishnamoorthy, et al., 1991), la cual permite estimar de manera más real la producción de gas al estimar que no está constante y depende del tiempo de colonización de las bacterias al sustrato. Así que a partir de la producción de gas y la composición química de los alimentos a estudio se puede estimar su contenido de energía metabolizable neta, la cantidad de MSd, MOd o las diferentes fracciones de fibra (FND, FAD) que han sido degradadas en función de la producción de gas (ml gas/g MSd) (Menke & Steingass, 1998).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

La presente investigación se realizó en las instalaciones de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia pertenecientes a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, ubicada en la carretera Morelia – Zinapécuaro, Km 9.5, en el municipio de Tarímbaro, Michoacán. Las características fisiográficas de la región son: clima templado con lluvias en verano, precipitación pluvial anual de 600 a 800 mm, con una altitud entre 1900 y 2400 metros sobre el nivel del mar, y temperatura anual promedio de 16 a 18°C (INEGI, 2009).

El análisis químico proximal y las técnicas de producción de gas *in vitro* se realizaron de Julio de 2017 a Octubre de 2017 en las instalaciones de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia pertenecientes a la Universidad Autónoma del Estado de México, en el Laboratorio de Bromatología y la Posta Zootécnica en el Sector de Ovinos y Caprinos perteneciente a la misma, los cuales se encuentran ubicados en el Km 15 Carretera Toluca – Ixtlahuaca, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México C.P. 50200 (INEGI, 2009).

Extracción de Tomillo

La planta de Tomillo (*Thymus Vulgaris*) se pone a secar en una estufa a 60 °C por 48 horas; pasando el proceso se pone la muestra en un ultrasonicador (20 kHz y 50 W) con un sustrato en este caso Agua Destilada; se usa CO₂ como fluido supercrítico para extracción; con 250 bar y 55 °C (8 a 30 minutos) en este caso fueron 15 minutos, esta técnica incrementa un 20% la cantidad de aceite; esta técnica está descrita por (Riera, et al., 2004).

Toma de Muestras

Para la estimación del rendimiento en materia seca (MS) y materia fresca (MF) se realizó cortando el forraje con una rozadera a una altura aproximada de 2 cm de la superficie del suelo, aleatoriamente (n=3) cuando el grano se encontraba en

estado masoso-lechoso (145 días), tomando áreas de 1.0 m lineal de las hileras centrales que forman la unidad experimental. Se registró el peso del forraje fresco (g) y se tomó una submuestra que se colocó en estufa a 60 °C durante 48 h para su desecación y se determinó el contenido de MS y humedad, para obtener el rendimiento de forraje (t/ha).

De las muestras de forraje seleccionadas, una parte se henificó. El henificado de cada muestra se realizó, mediante secado al sol durante siete días hasta alcanzar 85% de MS aproximadamente. El ensilado se realizó con forraje fresco picado de cada una de las variedades por triplicado, en tubos de policloruro de vinilo (PVC) de 20 x 10 cm, con una capacidad de 2.5 kg (Cobos, et al., 1997) haciendo un buen compactado y sellado con bolsas de polietileno y cinta adhesiva para evitar la entrada de aire. A los 60 días se extrajeron las muestras de los ensilados, se pesaron 200g y fueron secadas en una estufa de aire forzado a 60°C durante 48h. Homogenizando las repeticiones de cada variedad y método se molieron en un molino electromecánico tipo Willey con una criba de 2 mm de diámetro.

Composición Química Proximal

Las muestras de alimento se secaron en una estufa de aire forzado (60 °C, 48 horas), posteriormente se molieron en un molino (Willey, 2 mm Ø Arthur H. Tomas Philadelphia PA), para determinar la materia orgánica (OM) (AOAC, 1990), y el nitrógeno total (N) mediante el procedimiento de Kjendahl (AOAC, 1990), la fibra detergente neutro (FND), fibra detergente ácido (FAD) y lignina se determinó según (Van Soest, et al., 1991) con la adición de sulfito de sodio y alfa amilasa, usando un digestor de fibra ANKOM. Los residuos de la incubación *in vitro* se secaron (60 °C, 48 horas) para determinar la DM desaparecida a las 72 horas.

Método *in vitro*

Para la técnica de producción de gas *in vitro*, se utilizaron seis caprinos adultos (23 PV \pm 1 Kg), como donadores de fluido. Los animales recibieron una dieta

50:50 de heno de avena: heno de alfalfa. El alimento se les proporciono *ad libitum* diariamente a las 08:00 y 16:00 horas con acceso libre de agua de bebida.

La producción de gas se determinó en frascos ámbar de 125 ml y en tres series de incubación para cada muestra de forraje y métodos de conservación, utilizando el método el método propuesto por (Theodorou, et al., 1994). En cada frasco se introdujeron 0.8 g MS de cada una de las muestras, posteriormente se le adicionaron 90 ml de solución buffer (Menke & Steingass, 1998) gaseada con CO₂ y se guardó en refrigeración (4 °C, durante 12 horas). Al día siguiente se tomaron 700 ml de líquido ruminal y 300 g de sólido del contenido ruminal de cada uno de los bovinos donadores, la mezcla homogenizada fue filtrada a través de cuatro capas de gasa y posteriormente por lana de vidrio, manteniendo el líquido ruminal a 39 °C que fue gaseado con CO₂. Posteriormente se adicionó a cada frasco 10 ml de fluido ruminal. Finalmente, los frascos se introdujeron en un baño de agua a 39°C y se inició el registro de producción de gas utilizando un transductor de presión (DELTA OHM, Manometer, 8804). El volumen de gas producido fue registrado a las 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 64, 72, 84 y 96 h de incubación. Para correcciones se utilizaron dos frascos sin sustrato como blancos y paja de cebada como estándar.

Después del período de incubación (96h) in vitro, se liberó el gas acumulado y los residuos de fermentación de cada frasco fueron secados (60°C, 48 h) para calcular la proporción de materia seca desaparecida (MSd) y la producción de gas relativa (PGR, ml gas g⁻¹ MSd), de acuerdo con (Gonzalez Ronquillo, et al., 1998).

Krishnamoorthy, et al. (1991)

Para estimar la fermentación de los forrajes se utilizó la siguiente ecuación propuesta por (Krishnamoorthy, et al., 1991):

$$Pg= b (1-e^{-ct})$$

Dónde:

Pg= producción de gas (ml gas/g⁻¹ Ms inicial)

b= producción total de gas (ml gas/g⁻¹ Ms inicial)

c=tasa de degradación con respecto al tiempo (h)

t= tiempo (h)

$$v-D*(1-e^{-k*t})$$

$$v-D*(1-e^{-k*(t-l)})$$

Dónde:

v= producción acumulativa del gas en un momento dado (ml)

D= producción acumulativa potencial del gas (ml)

k= tasa de producción del gas (h⁻¹)

t= tiempo de la fermentación (horas)

l= retraso inicial para el inicio de la fermentación (h).

Cálculos estadísticos

Después del período de incubación *in vitro* se filtraron las muestras y se secaron (48 h, 60 °C) para medir la proporción de materia seca desaparecida (DMD96h) y MO desaparecida (MOD, mg), y se determinó la producción de gas a las 24h (GY24), se calculó el volumen de gas (ml gas / g MS) producido después de 24 h de incubación dividido por la cantidad de DMD (g):

$$\text{Producción de gas (GY24)} = \text{ml gas 24h/ g MS g DMD}$$

La producción de gas (PG) a las 96 h se correlacionó con la materia seca desaparecida para la producción de gas relativa (RGY: de gas g ml DMD), (Gonzalez Ronquillo, et al., 1998).

$$\text{RGY} = \text{ml gas 96h / g DMD}$$

Las concentraciones de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) se calculó de acuerdo a (Getachew, et al., 2002) como:

$$\text{SCFA (mmol / 200 mg DM)} = 0,0222 \text{ GP} - 0.00425$$

Donde

GP= es la producción neta de gas 24 h (ml / 200 mg DM).

La producción de proteína microbiana (PCM) se calculó de acuerdo a (Blümmel, et al., 1997) como:

$$\text{MCP (mg / g DM)} = \text{mg DMD} - (\text{ml gas} \times 2.2 \text{ mg / ml})$$

Donde

2.2 mg / ml= factor estequiométrico que expresa mg de C, H y O requerido para la producción de SCFA gas asociado con la producción de 1 ml de gas.

El diseño experimental para la composición química, los parámetros de producción de gas *in vitro* y la fermentación microbiana *in vitro* se utilizó un diseño completamente al azar (Steel, et al., 1997).

$$Y_{ij} = \mu + T_{xi} + \epsilon_{ij}$$

Donde

Y_{ij} = es cada observación de los tratamientos

μ ; μ es la media general

T_x ($i = 4$) es el efecto del tratamiento

ϵ_{ij} es error experimental.

Un valor de $P < 0,05$ fue considerado como una diferencia significativa entre los tratamientos. Se utilizó una prueba de Tukey cuando se observaron diferencias significativas entre tratamientos $P > 0.05$.

Análisis Estadístico

La estimación de la cinética de la producción de gas y los volúmenes de gas registrados (ml/gr de MS), se ajustaron con el paquete estadístico de (SAS. Institute, Inc., 2002).

RESULTADOS

Los parámetros de producción de gas en Heno de Avena son significativos en la variable B ($P < 0.001$) siendo el de menor producción la inclusión 6% y el de mayor producción el de 12%; al igual muestran que la variable Lag ($P < 0.0005$) que es menor la ganancia en la inclusión del 6% y mayor en la inclusión del 12%. En cuanto a los parámetros de producción de gas in vitro en Heno de Alfalfa únicamente resulta significativa la variable B ($P < 0.0005$) siendo mayor la producción de gas con la inclusión del 6% con respecto a la inclusión del 0% y la de menor aumento se da en la inclusión del 12%. Los parámetros de producción de gas en Rastrojo de Maíz son significativos en la variable B ($P < 0.0001$) siendo mayor la inclusión del 6% y la de menor la inclusión del 18% respecto a la inclusión del 0%; se encontró también en la variable C ($P < 0.0001$) la inclusión al 6% respecto al 0% de inclusión teniendo así la de menor producción de gas la inclusión del 18%; por último en la variable Lag ($P < 0.0001$) la inclusión al 6% hubo una mayor producción de gas con respecto a la inclusión del 0% y la de menor fermentación en la inclusión del 18%. Los parámetros de producción de gas del Pasto Kikuyo resulta significativo en la variable B ($P < 0.0001$) siendo mayor la inclusión del 12% y en la del 6% con respecto a la inclusión del 0%; y también se logró encontrar un valor significativo en la variable Lag ($P < 0.0001$) siendo la de mayor ganancia la inclusión del 18% y la de menor ganancia fue la inclusión al 6%.

El Heno de Avena resulta el de mayor producción a las 24 horas, teniendo una mayor producción de gas la inclusión al 18% con un 20.66% y la de menor producción fue la inclusión al 6% con un 10.31%. El segundo mayor productor de gas a las 24 horas fue el Rastrojo de Maíz, siendo la inclusión del 6% mayor con un 7.72% con respecto a la inclusión del 0% y el de menor producción fue la inclusión del 18% con un 31.76%. El tercer productor de gas es el Pasto Kikuyo a las 24 horas, siendo la inclusión del 6% mayor con un 7.57%, y la de menor producción fue la inclusión del 18% con un 13.69% con respecto a la inclusión del 0%. El Heno de Alfalfa es la de menor producción a las 24 horas, siendo la

inclusión del 18% mayor con un 11.07% y el de menor producción fue la inclusión del 12% con un 2.18%.

Con el Pasto Kikuyo se da la mayor producción de gas a 72 horas; siendo la inclusión 12% quien tiene un aumento en la producción de gas de un 5.66% con respecto al estándar de inclusión del 0%, y en el de menor valor se tiene una pérdida del 8.99% en la producción de gas con la inclusión al 18% con respecto al estándar. El Heno de Avena tiene la segunda mayor producción de gas a las 72 horas; siendo la inclusión del 18% quien aumenta la producción de gas un 16.88% con respecto al estándar de inclusión del 0%, y el de menor valor tiene una disminución del 10.27% de producción de gas con la inclusión del 6%. El Rastrojo de Maíz tiene la tercera mayor producción de gas a las 72 horas; solo habiendo una ganancia en la producción de gas en la inclusión del 6% de un 0.76% con respecto al estándar de inclusión del 0%, tenemos que la menor producción de gas es con una inclusión del 18% una mayor pérdida del gas del 23.87%. El Heno de Alfalfa fue la de menor producción de gas a las 72 horas; siendo el 18% de inclusión quien aumento la producción de gas un 2.2% con respecto al nivel estándar de inclusión del 0%, y en la inclusión del 12% se encontró una disminución del 3.9% del gas.

Para los parámetros de producción de gas se obtuvieron; en Rastrojo de Maíz fue donde más hubo cambios, el valor fue significativo en B lineal ($P < 0.0001$) y cuadrático ($P < 0.0001$), en C también tuvo un valor significativo en lineal ($P < 0.0001$) y cuadrático ($P < 0.0005$), por último en Lag time también se notó un gran cambio significativo en lineal ($P < 0.0001$) y cuadrático ($P < 0.0005$). Se muestra que en Heno de Avena que fue el segundo con mayores cambios se obtuvo un cambio significativo en B lineal ($P < 0.0001$) y cuadrático ($P < 0.0001$), en C fue significativo el línea ($P < 0.0005$) l y el Lag time fue significativo tanto en lineal ($P < 0.0005$) como en cuadrático ($P < 0.0005$). En Pasto Kikuyo fue el tercero donde más cambios se obtuvieron, se notó valores significativos en B lineal ($P < 0.0005$) y cuadrática ($P < 0.0001$), al igual que en Lag time donde por igual se observó una

significancia en lineal ($P < 0.0005$) y cuadrática ($P < 0.0001$). En el Heno de Alfalfa nada más fue significativo el valor en B cuadrático ($P < 0.0005$).

En Heno de Avena se observaron cambios lineales en PGR, PG24h, AGCC y EM ($P < 0.0005$). En Heno de Alfalfa no hubo cambios significativos. En Rastrojo de Maíz se observó cambios lineales en PGR, PG24h, AGCC y EM ($P < 0.0005$); además de significativos cambios cuadráticos en MSD, PGR y PCM ($P < 0.0005$). En Pasto Kikuyo se observaron cambios significativos lineales en PG24h, AGCC, PCM y EM ($P < 0.0005$); y cuadrática en DMS ($P < 0.0005$).

Tabla 5. Tabla de composición química de la dieta control y cuatro forrajes nativos en gr/Kg MD.

ID de Muestras	<i>Heno de Avena</i>	<i>Heno de Alfalfa</i>	<i>Rastrojo de Maíz</i>	<i>Pasto Kikuyo</i>
MS	919	903	885	201
MO	815	768	857	79
CENIZAS	63.1	135	68.1	121.7
PC	91	169	54	151
EE	2.2	2.5	1.10	2.7
Ca	0.12	1.5	0.1	0.25
P	0.35	0.3	0.3	0.25
FND	58.0	41.6	16.7	65.3
FAD	36.4	32.8	2.6	35.1
Lignina	6.5	7.6	8.96	4.3

Tabla 6. Parámetros de producción de gas In vitro y volumen de gas acumulativo después de 72 h de incubación de cuatro especies de plantas taníferas y cuatro niveles de inclusión de Tomillo (mg/g DM) en la alimentación de caprinos.

Especie de Planta (S)	Nivel de Inclusión	Parámetros de producción de gas ¹			Producción de gas in vitro (ml/g DM)				
		B	C	L	PG6	PG12	PG24	PG48	PG72
<i>Heno de Avena</i>	0	186.26c	0.0254	-1.9477b	35.94	59.18b	84.94b	129.88b	161.50b
	6	197.46b	0.0289	-1.5930	39.45	67.51ab	94.70ab	141.55ab	144.93ab
	12	223.96	0.0266	-1.3389	40.64	72.32ab	102.21ab	154.22	192.81
	18	220.80	0.0284	-1.4643	43.34	77.57	107.05	157.40	194.28
SEM especie		3.5707	0.0016	0.1115	2.9052	6.3401	7.2600	7.7113	8.1592
Valor de P		<0.0001	0.0928	0.0009	0.0765	0.0384	0.0266	0.0085	0.0033
Nivel (lineal)		<0.0001	0.0495	0.0007	0.0142	0.0075	0.0058	0.0024	0.0012
Nivel (cuadrático)		<0.0001	0.8313	0.0016	0.6373	0.4045	0.2603	0.0884	0.0323
<i>Alfalfa</i>	0	176.90	0.0273	1.2365	20.64	48.79	77.66	123.57	147.72
	6	176.83	0.0310	1.0730	20.98	50.53	84.36	125.68	147.45
	12	162.40b	0.0297	1.4624	18.86	47.01	79.39	120.90	141.97
	18	174.83	0.0310	1.3750	20.99	50.88	87.32	130.09	151.04
SEM especie		4.3343	0.0023	0.2475	3.1644	6.8299	7.3945	8.2665	9.4919
Valor de P		0.0095	0.2437	0.3073	0.8180	0.8907	0.4086	0.5991	0.7116
Nivel (lineal)		0.5753	0.0874	0.5126	0.8956	0.7171	0.1483	0.3628	0.6797
Nivel (cuadrático)		0.0023	0.7322	0.3968	0.4077	0.5745	0.5692	0.3403	0.3017
<i>Rastrojo de maíz</i>	0	223.63b	0.0273	1.1191	25.18	52.06	95.89	151.47	181.91
	6	243.46	0.0213b	1.0986	23.86	47.08	88.49ab	148.99	183.29
	12	238.13	0.0203b	0.8630	22.14	46.55	87.04ab	147.39ab	180.71ab
	18	163.73c	0.0196b	-0.7569b	19.65	40.38	65.44b	110.90b	138.49b
SEM especie		5.2683	0.0008	0.2330	2.2996	6.1641	9.7082	14.0310	16.2729
Valor de P		<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0818	0.2238	0.0244	0.0224	0.0256
Nivel (lineal)		<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0185	0.0489	0.0049	0.0076	0.0114
Nivel (cuadrático)		<0.0001	0.0010	0.0005	0.8707	0.9412	0.3801	0.1411	0.1125

<i>Pasto Kikuyo</i>	0	273.00c	0.0161	0.2960	22.60ab	51.26ab	85.20ab	151.14ab	193.50
	6	254.93d	0.0148	0.3275b	24.84	59.29	92.17	159.55	201.59
	12	349.26	0.0127	0.6700ab	21.42ab	50.94ab	87.38ab	157.05ab	204.50
	18	302.50b	0.0125	1.1269	17.24b	41.06	73.54b	136.26b	176.11
SEM especie		5.5894	0.0052	5.5894	2.4665	6.7559	6.1902	8.0577	11.1523
Valor de P		<0.0001	0.8137	<0.0001	0.0304	0.0632	0.0321	0.0300	0.0541
Nivel (lineal)		0.0002	0.4297	0.0002	0.0288	0.1018	0.0499	0.0535	0.0925
Nivel (cuadrático)		<0.0001	0.6930	<0.0001	0.4143	0.3466	0.1045	0.0471	0.0371

¹ *b* es la asíntota de la curva de la producción de gas total (ml/g DM); *c* es la tasa de producción de gas (/h); *Lag Time* es el retraso inicial para el inicio de la producción de gas (h).

a,b,c,d Diferentes subíndices siguiendo los promedios entre los niveles de inclusión entre las especies de plantas; dentro de las especies de plantas en la columna indican diferencias a <0.05.

Tabla 7. Perfil de fermentación ruminal In vitro de cuatro especies de plantas taníferas y cuatro niveles de inclusión de Tomillo en (mg/g DM) en la alimentación de caprinos.

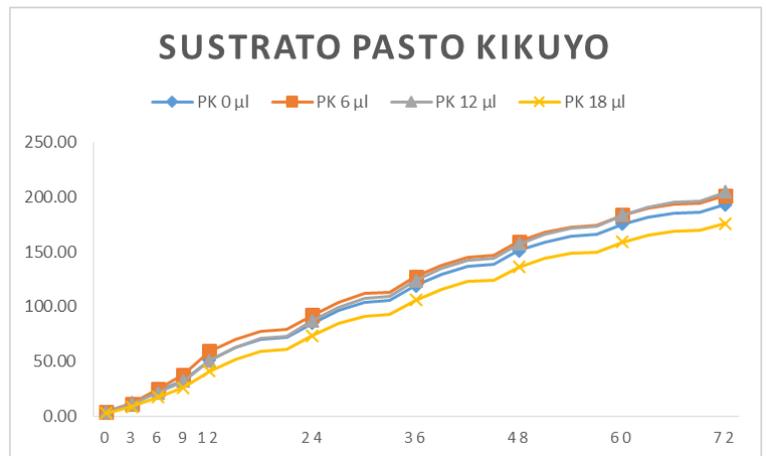
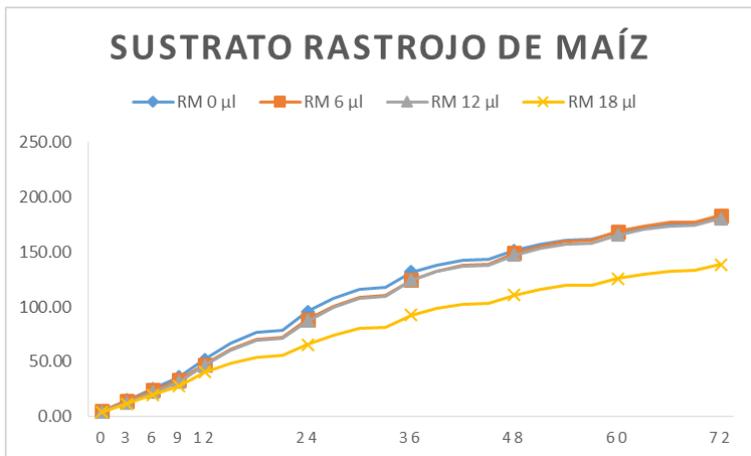
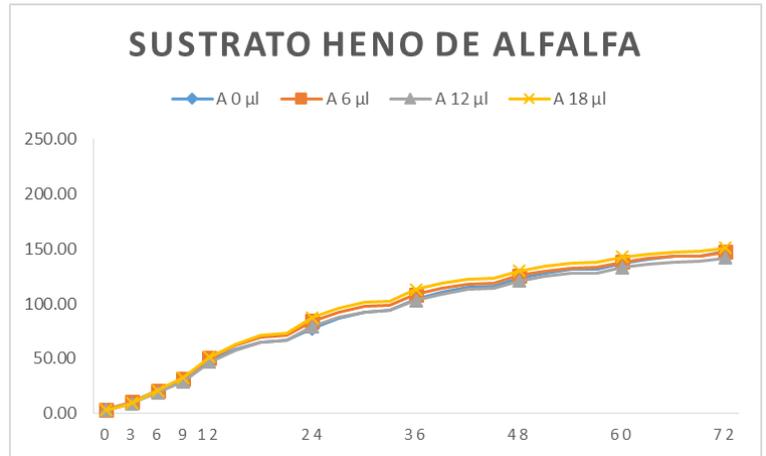
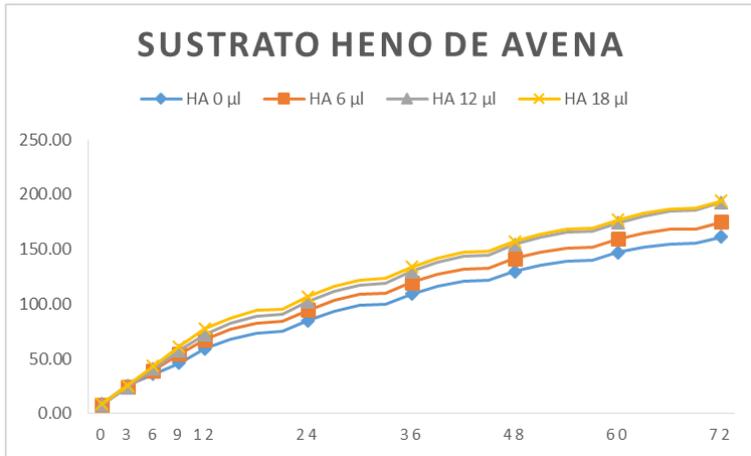
Especie de Planta (S)		MSD	PGR	PG24h	AGCC	PCM
<i>Heno de Avena</i>	0	60.60	266.53	140.16	0.3766b	568.69
	6	64.90	271.07	146.66	0.4166ab	607.34
	12	64.33	299.80	158.99	0.4533ab	598.47
	18	64.16	303.00	166.96	0.4733	594.55
SEM especie		3.7495	17.3336	13.0738	0.0313	36.9786
Valor de P		0.5191	0.0659	0.1291	0.0236	0.6292
Nivel (lineal)		0.2776	0.0328	0.0364	0.0054	0.4158
Nivel (cuadrático)		0.4831	0.2549	0.5735	0.2371	0.5367
<i>Alfalfa</i>	0	56.33	268.27	141.46	0.3400	529.13
	6	61.86	238.33	136.40	0.3700	581.72
	12	63.20	224.90	125.80	0.3466	597.03
	18	62.80	240.63	139.24	0.3833	589.65
SEM especie		5.3058	30.3581	20.0852	0.0330	53.6650
Valor de P		0.4084	0.4117	0.7854	0.3969	0.4455
Nivel (lineal)		0.1739	0.2973	0.8954	0.1469	0.2046
Nivel (cuadrático)		0.3612	0.2859	0.3356	0.5388	0.3502
<i>Rastrojo de maíz</i>	0	64.60	281.50ab	148.30	0.4200	603.76
	6	63.53	288.47ab	139.27ab	0.3900ab	596.22
	12	60.90	296.70	142.91ab	0.3800ab	570.86
	18	62.33	222.70b	105.23b	0.2866b	594.74
SEM especie		1.5253	26.3339	15.0625	0.0431	15.3193
Valor de P		0.0803	0.0321	0.0302	0.0258	0.1249
Nivel (lineal)		0.1063	0.0257	0.0081	0.0053	0.4915
Nivel (cuadrático)		0.0446	0.0435	0.1681	0.4072	0.0306
<i>Pasto Kikuyo</i>	0	78.5000b	232.90	108.58ab	0.3766ab	747.19b
	6	80.2000	251.43	114.91	0.4033	761.49
	12	79.8335ab	256.03	109.39ab	0.3833ab	760.15ab

	18	79.0333ab	222.83	93.04b	0.3233b	757.91ab
SEM especie		0.5649	20.3329	7.5341	0.0266	5.3143
Valor de P		0.0235	0.2311	0.0363	0.0315	0.0398
Nivel (lineal)		0.2810	0.5611	0.0354	0.0397	0.0388
Nivel (cuadrático)		0.0284	0.0858	0.1458	0.1145	0.0779

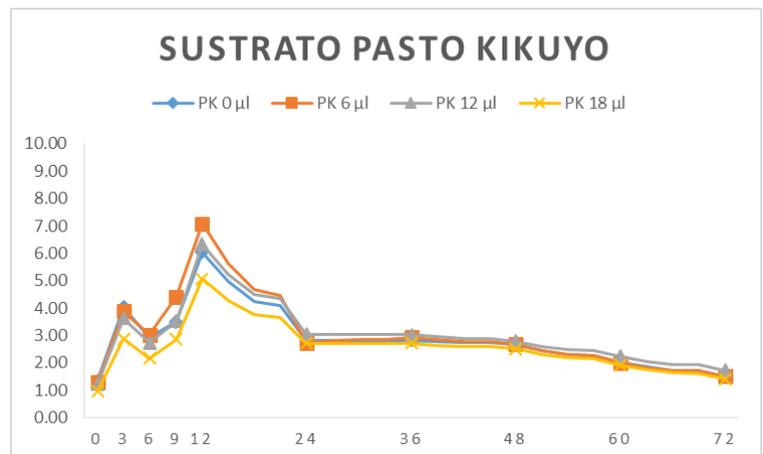
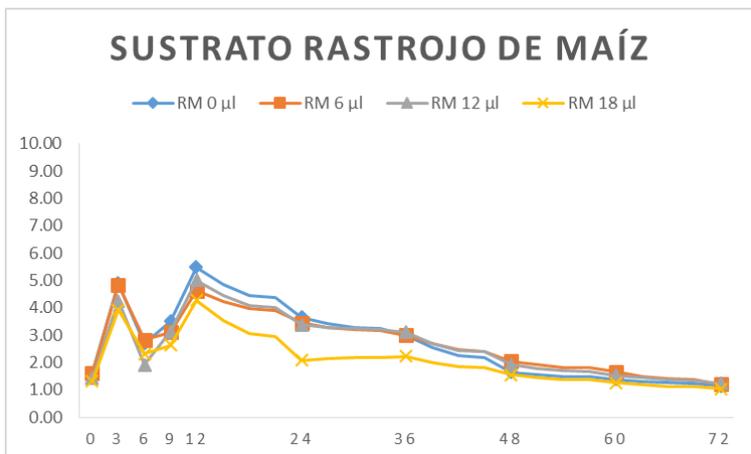
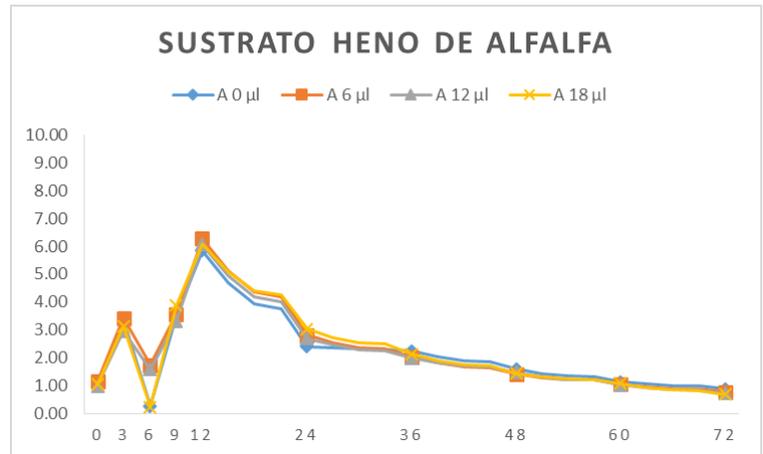
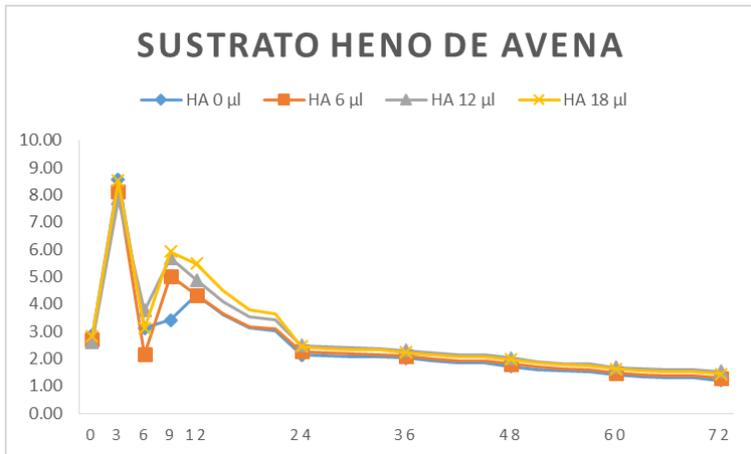
¹ PGR es producción de gas relativa (/); MSD es sustrato aparentemente degradado (mg/g DM); MOD es materia orgánica digestible (g/kg MS); ME es Energía Metabolizable (MJ/kg DM); PG₂₄ es la producción de gas a 24h (ml gas/g ADS); AGCC son ácidos grasos de cadena corta (mmol/g DM); PCM es la producción de proteína microbial (mg/g DM).

^{a,b,c,d} Diferentes subíndices siguiendo los promedios entre los niveles de inclusión entre las especies de plantas; dentro de las especies de plantas en la columna indican diferencias a <0.05.

Gráficas 1. Perfiles de producción de gas *in vitro* (mL/g MS) de raciones mixtas totales (TMR) que contienen diferentes niveles de Extracto de Tomillo 0, 6, 12 y 18 μ l/mg MS.



Gráficas 2. Perfiles de producción de gas *in vitro* (mL de gas/Hora) de raciones mixtas totales (TMR) que contienen diferentes niveles de Extracto de Tomillo 0, 6, 12 y 18 μ /mg MS.



DISCUSIÓN

Composición Química

La composición química de los forrajes que se evaluaron en este trabajo son similares a los expresados por la (National Research Council, 2007). En los forrajes en cuanto a Proteína Cruda se observa una menor presencia en el Rastrojo de Maíz debido a que contiene altos niveles de lignina debido al estado de madurez del forraje, la lignina unida a la celulosa y hemicelulosa reducen su digestión, inhibiendo la descomposición de carbohidratos de la pared celular, además de contribuir en la inhibición de la digestión microbiana de la fibra insoluble (Schneeman, 1989); (Theander, et al., 1994). En cambio el Heno de Alfalfa produce una mayor fermentación pues muestra una mayor cantidad de proteína cruda debido a que es una gramínea, y estas a su vez son ricas en carbohidratos como lo son la celulosa con lignina, hemicelulosa y pectinas (FAO, 1990). Debido a las bacterias que hacen el proceso digestivo de forma anaeróbica, una vez que degradan la celulosa ingerida a glucosa, que fermentan luego a ácido acético y reducen el dióxido de carbono, formando el metano en el proceso (Carmona , et al., 2005). Se observa que los niveles de extracto etéreo y calcio son menores en un alimento que tiene un mayor estado de madurez como lo es el rastrojo de maíz a comparación del pasto kikuyo que es una planta más joven y fresca. Así mismo se observa que en la pared celular caracterizada por la celulosa, hemicelulosa y lignina que se evalúan por los análisis de Fibra Neutro Detergente (FND) y el análisis de Fibra Ácido Detergente (FAD), tienden a ser menores los resultados cuando es un forraje de mayor madurez al contrario de un forraje joven donde podemos encontrar un mejor estado de composición de la pared celular pudiendo así comprobar que la materia seca, las cenizas y materia orgánica son resultados en mayor cantidad debido a la pérdida de los nutrientes en la planta y la alteración de esta pared celular (McDonald, et al., 1999).

Producción de Gas

En la producción de gas a las 24 horas se obtiene que el forraje que genero mayor producción de gas es el Heno de Avena y el de menor producción es el Heno de Alfalfa. Ya para las 72 horas se obtuvo que el Pasto Kikuyo fue el de mayor producción de gas y se mantuvo en una menor producción el Heno de Alfalfa. En ambos casos la inclusión de 12 $\mu\text{l}/\text{mg}$ MS del extracto de Tomillo fue quien redujo considerablemente la producción de gas, de acuerdo con (Robles H., 2010); en el extracto de Tomillo se encontró en sus compuestos Taninos que de acuerdo con (Mohamed Gomaa, 2016) los taninos en el follaje de los árboles y arbustos pueden reducir la producción de metano en el rumen, además podemos encontrar de acuerdo con (Robles H., 2010) flavonoides y alcaloides que de acuerdo con (Reed, et al. 2000) los tres anteriores son compuestos anti nutricionales y pueden llegar a ser tóxicos para el ganado; siendo así que se podría observar una posible mitigación de este gas ya que si se ve como antecedente que el forraje es rico en carbohidratos, es probable que la inclusión del extracto de 12 $\mu\text{l}/\text{mg}$ MS, pueda haber tenido un efecto positivo, pero también podría tener un efecto negativo por lo antes mencionado además por ser menos palatable el alimento. Ahora a las 24 horas y 72 horas siendo mayor en este último se puede notar una disminución notable en el Rastrojo de Maíz con la inclusión de 6 $\mu\text{l}/\text{mg}$ MS; en los demás forrajes llegando a las 72 horas se puede observar que hay disminuciones considerables con respecto al estándar en el Pasto Kikuyo y el Heno de Avena con la inclusión en ambos casos de 18 $\mu\text{l}/\text{mg}$ MS del extracto de Tomillo pudiéndose notar que las inclusiones de estos dos últimos tuvieron un mayor efecto en las últimas horas del experimento.

En la investigación realizada por (Orozco Durán, et al., 2014) se evaluó el efecto de la adición de proporciones 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 % de aceites de semillas de *Thevetia peruviana* (TP) y frutos de aguacate *Persea americana* (AG) en cultivos in vitro de fluido ruminal bovino sobre la producción de gas (PG), metano (CH_4),

donde el nivel del 3 % de suplementación de aceites de TP y AG redujo la producción de CH_4 , sin afectar la producción de gas y digestibilidad del forraje. Cabe destacar que en el empleo de este análisis se pudo cuantificar la producción de metano en comparación con este estudio.

En un estudio realizado por (Polin Raygoza, et al., 2014) nos habla de que se ha observado que el timol, mayor componente derivado del *Thymus v.* y *Origanum v.*, a dosis de 400 mg/L inhibe consistentemente el metano in vitro, pero las concentraciones de acetato y propionato también decrecen. En otros trabajos in vitro también con timol a dosis de 900 mg/L, observaron una mitigación en la producción del metano hasta un 99 % en relación con el tratamiento testigo. También se han reportado disminución en la producción de metano con el anetol en dosis de 20 mg/L.

En el trabajo elaborado por (Ramírez Rivera, 2018), donde adicionó aceite de moringa a diferentes inclusiones 0.0006 μ l, 0.0012 μ l y 0.0018 μ l, se observa que disminuyó la fermentación tal como menciona (Alexander, et al., 2013); pero este mismo autor menciona que los aceites logran un 23% máximo de disminución del CH_4 en cabras teniendo otras alternativas que pueden mitigar hasta el 50% del CH_4 , sirve como un sumidero de hidrógeno en un 2%, después de las 11 semanas se empieza a observar la disminución del efecto de las grasas en la disminución del CH_4 ; representa un gasto elevado al productor puesto que la semilla de moringa se está volviendo altamente demandante por los consumidores debido a sus beneficios, y por último el proceso de extracción de los aceites y la relación con la materia prima podrían aumentar el costo de este aceite, encareciendo los subproductos y productos como lo menciona (McDonald, et al., 1999).

CONCLUSIÓN

La adición de Extracto de Tomillo tuvo efectos positivos en la reducción de gases, en forrajes donde hay altos niveles de lignificación ya que la inclusión de 0.0012 μ l fue capaz de incrementar a las 24 horas solo un 2.18% y a las 72 horas un 3.9%, esto en el heno de alfalfa. También se puede mencionar que los que siguieron produciendo de menor a mayor producción de gases pasadas las 72 horas fueron el pasto kikuyo con un 8.99% con inclusión de 0.0018 μ l, después el heno de avena con 10.27% con una inclusión del 0.0006 μ l y al último el rastrojo de maíz donde había un incremento del 23.87% con una inclusión del 0.0018 μ l. Se puede observar que las cantidades elevadas de carbohidratos que tiene el extracto de tomillo hicieron que no hubiese una gran diferenciación en la disminución de estos gases.

Pero el extracto puede ser una alternativa a la mitigación de los gases puesto que podría tener otros beneficios, como el tiempo de efectividad de mitigación ya que el tiempo de duración antes de volverse ineficaz es de 11 semanas, además que los costos de producción y materia prima de los aceites no los hace convenientes al productor; se podrían hacer más estudios donde se compruebe la efectividad de un extracto contra una grasa homologas, porque aunque las grasas tengan una efectividad del 23%, ya que se pueden encontrar otras alternativas que tienen una mayor efectividad, se deberá encontrar alguna alternativa que no afecte mucho en los costos de los productos o subproductos. En estos estudios se debería evaluar la calidad del aceite o extracto con un fotoespectrometro de masas; así como evaluar la producción de metano con un cromatógrafo de gases, puesto que en este estudio solamente se evaluó la producción de los gases que podrían ser beneficiosos o perjudicar a la producción, ya que no solo altera el metabolismo si no también modifica el contenido nutricional de los productos y subproductos de origen animal un ejemplo es la leche que podrían ser aceptables o no al consumidor.

REFERENCIAS

- Aguilar López, E. Y. y otros, 2013. Rendimiento, composición química y producción de gas in vitro de variedades de Tricale X (X tricosecale Wittmack), y Cebada (*Hordeum vulgare*) asociadas con Ebo (*Vicia sativa*) conservados mediante ensilaje o Henificación. *Journal of Agricultural Science*, 5(2), pp. 227-238.
- Alexander, N. H. y otros, 2013. *Mitigación de las emisiones de gases de efecto invernadero en la producción ganadera*. Roma: FAO.
- AOAC, 1990. *Official Methods of Analysis*. 15 ed. Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemist.
- Beauchemin, K. A., McGinn , S. M., Martinez, T. F. & McAllister, T. A., 2007. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* , Issue 85, p. 1990–1996.
- Blümmel, M., Steingass, H. & Becker, K., 1997. The relationship between in vitro gas production, in vitro microbial biomass yield and 15N incorporation and its implication for prediction voluntary feed intake. *British Journal of Nutrition* , Issue 81, pp. 911-921.
- Bondi, A. A. & Drori, D., 1988. *Nutrición Animal*. Zaragoza: Acribia.
- Brow, E. G. y otros, 2011. Efectos of oral nitroethane administration on enteric methane emissions and ruminal fermentation in cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.*, pp. 166-167: 275-281.
- Carmona , J. C., Bolívar, D. M. & Giraldo , L. A., 2005. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Colombiana de ciencias pecuarias*, 18(1), pp. 49-64.
- Church, D. C., Pond, W. G. & Pond, K. R., 2002. *Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales*. Segunda ed. México: Limusa.

- Clark, H. y otros, 2004. Field testing and Australian developed anti-methanogen vaccine in growing ewe lambs.. *Actas del Workshop on the Science of Atmospheric Trace gases*, p. 107–108.
- Cobos, P. M. y otros, 1997. Nutritional evaluation of cattle manure, molasses and corn stover silage for lambs. *Small Ruminant Research*, Issue 25, pp. 33-38.
- Condón, S., Raso, J. & Pagán, R., 2005. Microbial inactivation by ultrasound. *Novel food processing technologies*, pp. 423-442.
- Czerkawski, J. W. & Clapperton, J. L., 1984. Fats as energy-yielding compounds in the ruminant diet. En J. Wiseman. *Fats in Animal Nutrition*, pp. 249-263.
- Djenni, Z., Pingret, D., Mason, T. J. & Chemat, F., 2013. Sono-Soxhlet: In Situ Ultrasound-Assisted Extraction of Food Products. *Food Analytical Methods*. Springer., 6(4), pp. 1229-1233.
- Elsevier, 2006. *Tomillo Propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas*. [En línea]
Available at: www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13083626-S300
[Último acceso: 16 05 2018].
- Eugène, M., Masse, D., Chiquette, J. & Benchaar, C., 2008. Meta-analysis on the effects of lipid supplementation on methane production in lactating dairy cows. *Can. J. Anim*, Issue 88, p. 331–334.
- FAO, 1990. *Utilización de alimentos tropicales: cereales*. Roma: s.n.
- FEDNA, 2016. *Alfalfa, heno en rama*. [En línea]
Available at: www.fundacionfedna.org/forrajes/alfalfa-heno-en-rama
[Último acceso: 15 10 2018].

- FEDNA, 2016. *Avena*. [En línea]
Available at: www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/avena
[Último acceso: 15 05 2018].
- Finlay, B. J. y otros, 1994. Some rumen ciliates have endoymbiotic methanogens. *FEMS Microbiol*, Issue 117, p. 157–162.
- Fonty, G. & Chaucheyras-Durand, F., 2006. Effects and modes of action of live yeasts in the rume. *Biologia (Bratisl.)*, Issue 61, p. 741–750.
- Gerber, P. J. y otros, 2013. *Enfrentando el cambio climático a través de la ganadería*. Roma: FAO.
- Getachew, G., Makkar, H. P. S. & Becker, K., 2002. Tropical browses: contents of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas production. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, Issue 139, pp. 341-352.
- Getawech, G., Blümmen, M., Makkar, H. P. S. & Becker, K., 1988. In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feed: a review. *Animal Feed Science and Technology*, Issue 48, pp. 185-197.
- Gonzalez Ronquillo, M., Fondevila, M., Barrios Urdaneta, A. & Newman, Y., 1998. In vitro gas production from buffel grass (*Cenchrus ciliaris* L.) fermentation in relation to the cutting interval, the level of nitrogen fertilisation and the season of growth. *Animal Feed Science and Technology*, pp. 19-32.
- Grainger, C. & Beauchemin, K. A., 2011. Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production. *Anim. Feed Sci. Technol.*, p. 166–167: 308–320.
- Gutierrez Banuelos, H. y otros, 2007. Zoonotic bacterial populations, gut fermentation characteristics and methane production in feedlot steers during oral nitroethane treatment and after the feeding of an experimental chlorate product. *Anaerobe*, Issue 13, pp. 21-31.

- Hristov, A. N. & Jouany, J. P., 2005. Factors affecting the efficiency of nitrogen utilization in the rumen. *Nitrogen and Phosphorus Nutrition of Cattle: Reducing the Environmental Impact of Cattle Operations*, p. 117–166.
- Immg, I. y otros, 1996. Attempts to induce reductive acetogenesis into a sheep rumen. *Arch. Anim. Nutr.*, Issue 49, pp. 363-370.
- INEGI , 1997. *El sector agroalimentario en México*. México: s.n.
- INEGI, 2009. *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Michoacán de Ocampo*. [En línea]
Available at: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/16/16088.pdf>
[Último acceso: 20 12 2016].
- INEGI, 2009. *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Toluca de Lerdo.* [En línea]
Available at: http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/15/15090.pdf
[Último acceso: 15 02 2017].
- Krishnamoorthy, U., Soller, H., Steingass, K. H. & Menke, 1991. A comparative study on rumen fermentation of energy supplements in vitro. *Journal Animal Physiology Animal Nutrition*, Issue 65, pp. 28-35.
- López-Malo, A. y otros, 2005. Multifactorial fungal inactivation combining thermosonication and antimicrobials. *Journal of Food Engineering*, 1(67), pp. 87-93.
- Mason, T. J., 1999. Emerging technologies for food processing. *Sonochemistry. Elsevier*, Issue 70, p. 768.

- Mason, T. J., Riera, E., Vercet, A. & López-Buesa, P., 2005. Application of ultrasound. *Emerging technologies for food processing. Elsevier*, pp. 323-351.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D. & Morgan, C. A., 1999. *Nutrición Animal*. Quinta ed. Zaragoza: Acribia.
- Menke, K. H. & Steingass, H., 1998. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analyses and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research*, Issue 28, pp. 7-55.
- Método de Evaluación Rápida de Invasividad (MERI) para especies exóticas en México, 2016. *Pennisetum clandestinum Hochst. ex Chiov., 1903*. [En línea]
[Último acceso: 15 05 2018].
- Mitsumori, M. y otros, 2011. Responses in digestion, rumen fermentation and microbial populations to inhibition of methane formation by a halogenated methane analogue. *Br. J. Nutr.*, Issue 8, pp. 1-10.
- Mohamed Gomaa, R. M., 2016. *Desarrollo de estrategias para reducir la producción de metano a nivel ruminal por el ganado bovino en México*. Toluca: UAEM.
- Mulet, A., Cárcel, J. A., Benedito, J. & Sanjuan, N., 2002. Applications of low-intensity ultrasonics in the dairy industry. *Engineering and food for the 21 Century*, pp. 763-783.
- Muñoz, C. y otros, 2012. Comparison of the sulphur hexafluoride tracer and respiration chamber techniques for estimating methane emissions and correction for rectum methane output from dairy cows. *J. Dairy*, Issue 95, pp. 3139-3148.
- Murray, R. M., Bryant, A. M. & Leng, R. A., 1976. Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. *Br. J. Nutr.*, Issue 36, pp. 1-14.

- National Research Council, 2007. *Nutrient requirements of small ruminants (Sheep, goats, cervids, and new world camelids)*. Washington: s.n.
- Niezen, J. H., Waghorn, G. C. & Charleston, W. A. G., 1998. Establishment and fecundity of *Ostertagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis* in lambs fed lotus (*Lotus pedunculatus*) or perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Vet. Parasitol*, Issue 28, pp. 13-21.
- Niezen, J. H., Waghorn, T. S., Charleston, W. A. G. & Waghorn, G. C., 1995. Growth and gastrointestinal nematode parasitism in lambs grazing either lucerne (*Medicago sativa*) or sulla (*Hedysarum coronarium*) which contains condensed tannins. *J. Agric. Sci*, Issue 125, p. 281–289.
- Orozco Durán, K. E. y otros, 2014. *Reducción de la metanogénesis ruminal in vitro con aceites vegetales de Thevetia peruviana y Persea americana*. [En línea]
Available at: <http://www.redalyc.org/pdf/3586/358646832006.pdf>
[Último acceso: 16 05 2018].
- Piyasena, P., Mohareb, E. & McKellar, R. C., 2002. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 3(87), pp. 207-216.
- Polin Raygoza, L. A., Muro Reyes, A. & Díaz García, L. H., 2014. *Aceites esenciales modificadores de perfiles de fermentación ruminal y mitigación de metano en rumiantes*. [En línea]
Available at: https://www.researchgate.net/publication/262643069_Aceites_esenciales_modificadores_de_perfiles_de_fermentacion_ruminal_y_mitigacion_de_metano_en_rumiantes_Revision/fulltext/59702231aca27244e35301ba/262643069_Aceites_esenciales_modificadores_de_perfiles_d
[Último acceso: 16 05 2018].

- Rabiee, A. R. y otros, 2012. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and meta-regression. *J. Dairy Sci*, Issue 95, p. 3225–3247.
- Ramírez Rivera, J. C., 2018. *Efecto de la adición de aceite de moringa en la alimentación para mitigar la producción de gases de efecto invernadero en rumiantes*, Morelia: s.n.
- Reyes Muro, L., Camacho Villa, T. C. & Guevara Hernández, F., 2013. *Rastrojos: manejo, uso y mercado en el centro y sur de México*. Aguascalientes: INIFAP.
- Ribero, 2014. *El heno de avena*. [En línea] Available at: www.riberosat.es/elhenodeavena/ [Último acceso: 15 05 2018].
- Riera, E. y otros, 2004. Mass transfer enhancement in supercritical fluids extraction by means of power ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 3(11), pp. 241-244.
- Robles H., M. d. S. N., 2010. *Efecto de extractos de productos naturales para controlar la presencia de Campylobacter jejuni y Salmonella spp en carne molida de pollo*. Nuevo León : Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Russell, J. B. & Houlihan, A. J., 2003. Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. *FEMS Microbiol*, Issue 27, p. 65–74.
- SAS. Institute, Inc., 2002. *User's guide: Statistics, Statistical*. 8 ed. Cary, North Carolina, U.S.A.: s.n.
- Schneeman, B. O., 1989. Dietary fiber. *Food Technology*, 10(43), pp. 133-138.

- Shu, Q. y otros, 2001. Antibody response in sheep following immunization with *Streptococcus bovis* in different adjuvants. *Vet. Res. Commun*, Issue 25, p. 43–54.
- Steel, R. D. G., Torrie, J. H. & Dickey, D. A., 1997. *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*. Tercera ed. New York: McGraw-Hill Co, Inc.
- Steinfeld, H. y otros, 2009. *La larga sombra del ganado*. Roma: FAO.
- Terrill, T. H. y otros, 1992. Effect of condensed tannins upon body growth, wool growth and rumen metabolism in sheep grazing sulla (*Hedysarum coronarium*) and perennial pasture. *J. Agric. Sci*, Issue 119, p. 265–273.
- Theander, O., Westerlund, E. & Aman, P., 1994. Structure and components of dietary fiber. *Journal Article in AGRIS*, 38(3), pp. 135-138.
- Theodorou, M. K. y otros, 1994. Simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 3-4(48), pp. 185-197.
- Torley, P. J. & Bhandari, B. R., 2007. Ultrasound in food processing and preservation. *Handbook of food preservation*, pp. 713-739.
- UPRM, 2015. *FERMENTACIONES Y METANOGENESIS*. [En línea] Available at: www.uprm.edu/p4-metanogenesis [Último acceso: 15 05 2018].
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B. & Lewis, B. A., 1991. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, Issue 74, pp. 3583-3597.
- Wedlock, D. N. y otros, 2010. Development of a vaccine to mitigate greenhouse gas emissions in agriculture; vaccination of sheep with

methanogen fractions induces antibodies that block methane production in vitro. *N. Z. Vet.*, Issue 58, p. 29–36.