



Abanico Veterinario. Enero-Diciembre 2022; 12:1-17. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2022.22>
Artículo Original. Recibido: 07/01/2022. Aceptado:27/07/2022. Publicado: 19/08/2022. Clave: e2022-1.
<https://www.youtube.com/watch?v=dNnxkdLbHUA>

Fermentación ruminal *in vitro* de follajes de *Muntingia calabura* y *Bauhinia divaricata* solos y combinados con *Pennisetum* sp

Ruminal fermentation *in vitro* of *Muntingia calabura* and *Bauhinia divaricata* foliages alone and combinet with *Pennisetum* sp



Bernardino Candelaria-Martínez^{1ID}, Adrián Sandoval-Pelcastre^{1ID}, Norma Rodríguez-Ávila^{1ID}, Mónica Ramírez-Mella^{2*ID}

¹Tecnológico Nacional de México campus Instituto Tecnológico de Chiná, Calle 11 s/n entre 22 y 28, Chiná, Campeche, México. C.P. 24520. ²CONACYT-Colegio de Postgraduados Campus Campeche. Carretera Haltunchén-Edzná km 17.5, Sihochac, Champotón, Campeche, México, C.P. 24450. Autor para correspondencia: Mónica Ramírez Mella, CONACYT-Colegio de Postgraduados Campus Campeche. Carretera Haltunchén-Edzná km 17.5, Sihochac, Champotón, Campeche, México, C.P. 24450 E-mail: bcm8003@gmail.com, adr.y92@hotmail.com, norma.ra@china.tecnm.mx, monicara@colpos.mx

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar las características de la fermentación ruminal de los follajes de *Bauhinia divaricata* y *Muntingia calabura* solos y combinados con *Pennisetum* sp. Se evaluaron cinco tratamientos: P=*Pennisetum* sp. (100%); Mc=*M. calabura* (100%); Bd= *B. divaricata* (100%); McP= *M. calabura* (30%)/*Pennisetum* sp. (70%), y BdP= *B. divaricata* (30%)/*Pennisetum* sp. (70%). Los tratamientos con la mayor degradabilidad *in vitro* de la materia seca (DMS) fueron P, BdP, McP y Bd (>50%) (P≤0.05). No hubo diferencias significativas (P>0.05) en la producción de gas (PG) entre los tratamientos Bd, BdP, McP y P; sin embargo, Mc produjo 35% menos gas (P≤0.05) que los demás tratamientos. Contrariamente, Mc produjo 153% más metano (CH₄) que Bd (P≤0.05), siendo Bd y BdP los tratamientos con menor producción de CH₄. No se observaron diferencias significativas (P>0.05) en la concentración de ácido grasos volátiles (AGV), excepto de ácido acético entre Mc y P con Bd, y de ácido isovalérico entre Mc y Bd (P≤0.05). En conclusión, el follaje de *B. divaricata* disminuyó la producción de CH₄ y no afectó negativamente otras variables de fermentación ruminal, por lo que representa una alternativa alimenticia para reducir la metanogénesis ruminal de ganado en el trópico.

Palabras clave: producción de gas, metano, metabolitos secundarios, arbóreas forrajeras, rumiantes.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the ruminal fermentation characteristics of *Bauhinia divaricata* and *Muntingia calabura* foliages alone and combined with *Pennisetum* sp. Five treatments were evaluated: P = *Pennisetum* sp. (100%); Mc = *M. calabura* (100%); Bd = *B. divaricata* (100%); McP = *M. calabura* (30%)/*Pennisetum* sp. (70%), and BdP = *B. divaricata* (30%)/*Pennisetum* sp. (70%). The treatments with the highest *in vitro* dry matter degradability (DMS) were P, BdP, McP and Bd (> 50%) (P≤0.05). There were no significant differences (P> 0.05) in gas production (PG) among treatments Bd, BdP, McP and P; however, Mc produced 35% less gas (P≤0.05) than the other treatments. Conversely, Mc produced 153% more methane (CH₄) than Bd (P≤0.05), being Bd and BdP the treatments with the lowest CH₄ production. No significant differences (P> 0.05) were observed in volatile fatty acid (VFA) concentration, except for acetic acid between Mc and P with Bd, and isovaleric acid between Mc and Bd (P≤0.05). In conclusion, *B. divaricata* foliage decreased CH₄ production and did not negatively affect other ruminal fermentation



variables, thus representing a dietary alternative to reduce the ruminal methanogenesis of cattle in the tropics.

Keywords: gas production, methane, secondary metabolites, forage tree, ruminants.

INTRODUCCIÓN

Se estima que para el año 2050, la población mundial será de aproximadamente 9700 millones de personas (ONU, 2019). Debido a ello, se incrementará la producción y consumo de alimentos de origen animal, lo cual aumentará las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI); esto impactará negativamente en el Cambio Climático (Garnett, 2010). La ganadería es una actividad antropogénica, que en 2010 generó en el mundo aproximadamente 8.1 gigatoneladas de CO₂-eq, de las cuales, el 62% fueron atribuidas al ganado bovino. De estas emisiones, alrededor del 44% son producto de la fermentación entérica del proceso digestivo, dando lugar a elevadas cantidades de metano (CH₄) (FAO, 2017). El CH₄ es un GEI con un potencial de calentamiento global 28 veces mayor que el dióxido de carbono (CO₂) (Roehe *et al.*, 2016). Es producido por las arqueas metanogénicas que utilizan el H₂ y CO₂ derivado de la fermentación ruminal de los carbohidratos y es expulsado al ambiente a través del eructo. Se estima que un bovino adulto puede producir de 250 a 500 L de CH₄ cada día, lo que además constituye una pérdida de energía, debido a que aproximadamente del 2 al 12% de la energía bruta que el animal consume, se destina para la producción de este gas (Johnson & Johnson, 1995).

La producción ruminal de CH₄ está fuertemente influenciada por la composición del alimento, por lo que las investigaciones para reducirlo se han enfocado en manipular el ambiente ruminal modificando la diversidad microbiana y los patrones de fermentación ruminales a través de la dieta (Haque, 2018). Entre las estrategias estudiadas para disminuir la producción de CH₄ sobresale el uso de metabolitos secundarios (MSec) como taninos condensados, saponinas y flavonoides presentes en diversas plantas (Bodas *et al.*, 2012), los cuales han demostrado tener actividad antimicrobiana y reducir la disponibilidad de H₂ en el rumen (Hook *et al.*, 2010).

Se ha investigado el efecto de diversos árboles y arbustos forrajeros tropicales para disminuir las emisiones de CH₄, siendo *Leucaena leucocephala* una de las especies más empleadas para tal fin (Delgado *et al.*, 2012; Meale *et al.*, 2012; Molina *et al.*, 2015; Rivera *et al.*, 2015). Otras especies de árboles tales como *Samanea saman*, *Sapindus saponaria*, *Albizia lebbek*, *Tithonia diversifolia*, *Gliricidia sepium* y *Vetellaria paradoxa* también han demostrado reducir las emisiones de CH₄ ruminal *in vitro* (Delgado *et al.*, 2012; Meale *et al.*, 2012); sin embargo, en las regiones tropicales de México existe una gran diversidad de plantas forrajeras que han sido menos estudiadas a pesar de tener potencial alimenticio y antimetanogénico, tales como *Bauhinia divaricata* y *Muntingia*



calabura. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar la fermentación ruminal y la producción de gas (PG) *in vitro* de los follajes de *B. divaricata* y *M. calabura* solos y combinados con *Pennisetum* sp.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ubicación y colecta del material vegetal

La colecta de material vegetal se realizó en el mes de febrero de 2018 en el Rancho Xamantún perteneciente al Instituto Tecnológico de Chiná del Tecnológico Nacional de México, ubicado a 19°43' latitud Norte y 90°24' longitud Oeste. El sitio cuenta con un clima cálido subhúmedo A(W1) (García, 2004), con temperatura y precipitación media anual de 26°C y 1,138 mm, respectivamente, y una elevación de 36 m.

Se colectó 1 kg de follaje fresco, compuesto por hojas y tallos tiernos, simulando el ramoneo de un bovino adulto a un máximo de dos metros de altura, de las siguientes 10 especies de plantas arbóreas y arbustivas: *B. divaricata*, *M. calabura*, *Lysiloma latisiliquum*, *Tithonia diversifolia*, *Sida acuta*, *Guazuma ulmifolia*, *Moringa oleifera*, *Acacia farnesiana*, *Samanea saman* y *Coccoloba cozumelensis*, así como 5 kg de *Pennisetum* sp. var. maralfalfa. Las muestras se secaron en una estufa de aire forzado a una temperatura de 55°C durante 72 h. Posteriormente, se molieron en un molino tipo Willey con criba de 1 mm y se conservaron a temperatura ambiente (24°C) hasta su uso.

Presencia de metabolitos secundarios

Se determinó la presencia cualitativa de diversos MSec del follaje de las 10 especies de árboles y arbustos forrajeros previamente mencionados. Para ello, se tomaron 25 g del material vegetal y se colocaron en frascos de vidrio. Posteriormente se añadieron 3 v/v de etanol al 96 % como solvente para extraer los MSec. Una vez obtenidos los extractos etanólicos, la presencia de MSec se realizó siguiendo el protocolo de Valencia del Toro y Garín (Valencia-Del Toro y Garín-Aguilar, 2010). Los resultados se muestran en el Cuadro 1.

Tratamientos

Tomando en cuenta los perfiles de MSec obtenidos, así como a la escasa información de sus efectos en la fermentación ruminal, se seleccionaron dos especies vegetales por su alto contenido de metabolitos inhibidores de la actividad microbiana: *M. calabura*, la cual tuvo una alta presencia de saponinas esteroidales y flavonoides del tipo xantonas y flavonas, y *B. divaricata*, la cual presentó un contenido moderado de taninos derivados del catecol. Con base en lo anterior, se evaluaron cinco tratamientos: P=*Pennisetum* sp. (100%); Mc=*M. calabura* (100%); Bd=*B. divaricata* (100%); McP=*M. calabura* (30%)/*Pennisetum* sp. (70%), y BdP=*B. divaricata* (30%)/*Pennisetum* sp. (70%).



Cuadro 1. Presencia de metabolitos secundarios en el follaje de arbóreas y arbustivas forrajeras tropicales

ESPECIE VEGETAL	METABOLITOS SECUNDARIOS												
	Alcaloides	Saponinas		Lactonas	Taninos		Quinonas	Cardenolidos	Laucoantocianidinas	Flavonoides			
		Esteroides	Triterpenoides		Acido gálico	Catecol				Auronas	Chalconas	Xantonas	Flavonas
<i>Acacia farnesiana</i>	-	+++	-	+++	+++	-	-	-	+	-	-	+++	+++
<i>Muntingia calabura</i>	-	+++	-	+++	++	-	-	-	+	-	-	+++	+++
<i>Moringa oleifera</i>	-	-	+	+++	+++	-	-	-	++	-	-	+++	+++
<i>Samanea saman</i>	-	+++	-	+++	++	-	-	-	+	-	-	++	++
<i>Lysiloma latisiliquum</i>	-	+++	-	+++	+++	-	-	-	+	-	-	+	+
<i>Tithonia diversifolia</i>	-	+++	-	+++	-	++	-	-	+	+	+	-	-
<i>Sida acuta</i>	-	+++	-	+++	-	-	-	-	++	-	-	+	+
<i>Bauhinia divaricata</i>	-	++	-	+++	-	++	-	-	-	-	-	+	+
<i>Guazuma ulmifolia</i>	-	+	-	+++	-	+++	-	-	-	-	-	+	+
<i>Coccoloba cozumelensis</i>	-	++	-	+	-	+++	-	-	-	-	-	-	-

(+++) Alto; (++) Moderado; (+) Bajo; (-) no hay presencia.

Análisis químicos

Las muestras secas y molidas de los cinco tratamientos se analizaron por triplicado para determinar el contenido de materia seca (MS), cenizas, proteína cruda (PC) y extracto etéreo (EE) de acuerdo con la AOAC (2006); mientras que la fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) se determinaron de acuerdo a la técnica de [Van Soest et al. \(1991\)](#). Los resultados se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Composición química de los follajes de *Muntingia calabura* y *Bauhinia divaricata* solos o combinados con *Pennisetum sp*

Tratamiento	MS ¹	Cenizas ^{1,2}	FDN ^{1,2}	FDA ^{1,2}	PC ^{1,2}	EE ^{1,2}
Mc	95.77	8.31	53.02	52.42	13.56	6.55
Bd	96.85	8.46	49.89	48.12	14.74	1.74
McP	96.45	10.97	69.35	57.83	7.94	6.42
BdP	96.56	10.69	68.02	55.24	8.12	1.78
P	96.94	11.84	76.85	59.02	6.02	1.99

¹Valores expresados en porcentaje; ²Valores expresados en base seca; P=*Pennisetum sp.* (100%); Mc=*M. calabura* (100%); Bd=*B. divaricata* (100%); McP=*M. calabura* (30%)/*Pennisetum sp.* (70%), y BdP=*B. divaricata* (30%)/*Pennisetum sp.* (70%).



Fermentación *in vitro*

El procedimiento para la colecta de líquido ruminal (LR) se realizó en estricto apego a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 “Especificaciones técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio” (NOM-062-ZOO-1999., 1999). El LR utilizado se obtuvo de cuatro novillos machos, no castrados, de diferentes cruza de razas de Sardo Negro, Gyr, Brahman y Pardo Suizo, de un año de edad y con un peso promedio de 250 kg. Su alimentación consistió en una dieta integral (70:30 forraje:concentrado) compuesta por paja de pastos de *Echinochloa polystachya* y *Brachiaria brizantha*, maíz molido, granos secos de destilería, melaza y premezcla mineral, la cual se ofreció dos veces al día (8:00 y 16:00 horas). Diariamente los novillos consumieron el equivalente al 3% de MS de su peso vivo.

La extracción de LR se realizó por la mañana, una hora antes de la primera ración del día usando un colector manual de LR (Rumen-Mate with RFE, Drench-Mate®). El LR recolectado se depositó en un termo previamente calentado a 39°C, e inmediatamente se transportó al laboratorio. Una vez en el laboratorio, el LR se filtró a través de cuatro capas de manta de cielo y se utilizó para preparar el inóculo, el cual se elaboró de acuerdo a la metodología de Menke *et al.* (1979). Posteriormente, se adicionaron 50 mL de inóculo en viales de vidrio color ámbar con capacidad de 120 mL, que contenían 0.5 g de cada uno de los tratamientos, se taparon con un tapón de goma, se sellaron con un arillo de aluminio y se colocaron en un baño maría a 39°C, agitándose manualmente cada 2 horas. Se realizaron tres fermentaciones en total, con tres repeticiones cada una.

Degradabilidad *in vitro* de la materia seca

La degradabilidad *in vitro* de la materia seca (DMS, mg/g MS) se determinó a las 24 y 72 horas. Al final de cada tiempo, se sacaron los viales del baño maría y se colocaron en agua con hielo durante 2 horas para detener la actividad microbiana. Posteriormente, se filtró el contenido de cada vial con una bomba de vacío; el material filtrado se colocó en una estufa a 70°C durante 24 horas hasta peso constante.

Producción de gas *in vitro*

La producción de gas (PG) se registró a las 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 42, 48, 60 y 72 horas utilizando un manómetro (Theodorou *et al.*, 1994). Después de cada registro, se igualó a cero la presión de cada frasco. Para obtener el volumen máximo (Vmax), la tasa de fermentación (S) y la fase lag (L) se usó el procedimiento NLIN del programa estadístico SAS (2004) versión 9.0, utilizando el modelo mencionado por Kholif *et al.* (2017).



Determinación de CH₄ y CO₂

La determinación de CH₄ y CO₂ se realizó de acuerdo con [Kholif et al. \(2017\)](#), con las siguientes modificaciones: cada 6 horas durante 24 horas, se colectó el gas producido en los viales con una jeringa de vidrio de 60 mL; posteriormente este gas se transfirió a otro vial que contenía 50 mL de una solución de NaOH (1N), se agitó para asegurar la incorporación del gas en dicha solución, se volvió a colectar y se registró el gas con la misma jeringa de vidrio. La mezcla del gas con la solución de NaOH permitió la absorción de CO₂, y el volumen de gas colectado en la jeringa se consideró como CH₄.

Determinación de AGV

La determinación de AGV se realizó por cromatografía de gases ([Erwin et al., 1961](#)). A las 72 horas de fermentación, se colectó 1.6 mL de líquido de cada vial, se depositó en un tubo de microcentrífuga con 0.4 mL de ácido metafosfórico al 25% y se almacenó a -20°C.

Energía metabolizable y factor de partición

El cálculo de la energía metabolizable se realizó siguiendo el modelo propuesto por [Menke et al. \(1979\)](#). El factor de partición (relación entre DMS (mg/g) y PG (ml/g MS)), se calculó a las 24 horas de incubación utilizando el modelo mencionado por [Kholif et al. \(2017\)](#).

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño en bloques completamente al azar utilizando el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + F_j + E_{ij}$$

Dónde: Y_{ij} = es cada observación del i-ésimo tratamiento (T_i) de la j-ésima fermentación (F_j); μ = media aritmética; E_{ij} = error experimental.

Los resultados se analizaron con el procedimiento GLM de programa estadístico [SAS \(2004\)](#) versión 9.0 y se realizó la comparación de medias por la prueba de Tukey (P≤0.05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Presencia de metabolitos secundarios y análisis químicos

Las especies forrajeras evaluadas tuvieron presencia de varios MSec, pero ninguna mostró presencia de alcaloides, quinonas o laucoantocianinas (Cuadro 1). Se observó que las especies *M. oleifera*, *A. farnesiana* y *L. latisiliquum* tuvieron un alto contenido de taninos derivados del ácido gálico y *G. ulmifolia* en taninos derivados del catecol; mientras



que las especies *M. calabura* y *S. saman* tuvieron un contenido moderado en taninos derivados del ácido gálico, y las especies *B. divaricata* y *T. diversifolia* en taninos derivados del catecol. Respecto a las saponinas, las especies con mayor presencia de esteroides fueron *M. calabura*, *L. latisiliquum*, *T. diversifolia*, *S. acuta*, *A. farnesiana* y *S. saman*, mientras que en terpenoides solo *M. oleifera* presentó baja presencia. Del grupo de los flavonoides, las especies forrajeras con alta presencia de xantonas y flavonas fueron *M. calabura*, *M. oleifera* y *A. farnesiana*, mientras que *S. saman* tuvo una presencia moderada; el resto de las especies tuvo una presencia baja, a excepción de *T. diversifolia*, la cual fue la única especie que presentó una baja presencia de auronas y chalconas.

Los metabolitos secundarios son compuestos producidos en diferentes rutas del metabolismo secundario de las plantas, los cuales no son esenciales para el crecimiento y reproducción. Estas biomoléculas desempeñan diversas funciones, destacando la respuesta al estrés ambiental, inmunidad y protección contra microorganismos patógenos, plagas (Pang *et al.*, 2021) y animales herbívoros (Ugbogu *et al.*, 2019). Se ha demostrado que algunos de estos metabolitos secundarios pueden tener actividad antimicrobiana sobre los microorganismos ruminales, siendo la disminución de la metanogénesis ruminal uno de sus efectos principales (Patra *et al.*, 2017), el cual ha sido ampliamente reportado para taninos y saponinas (Anantasook *et al.*, 2013; Ugbogu *et al.*, 2019; Patra *et al.*, 2017) y en menor medida para flavonoides (Patra *et al.*, 2017). Contrario a Delgado *et al.* (2012), quienes reportaron presencia moderada o alta de alcaloides en mezclas de follajes de árboles con pasto, en el presente estudio no fue detectado este metabolito. Los alcaloides poseen actividad antimicrobiana pero también se ha demostrado que son tóxicos tanto para animales como humanos. En general, los animales no consumen altas cantidades de plantas con alto contenido de alcaloides debido a su sabor amargo (Guil-Guerrero *et al.*, 2016).

La selección de *M. calabura* y *B. divaricata* fue debido a sus características fitoquímicas y por la escasa información de sus efectos en la fermentación ruminal. El valor nutricional de las dos especies arbóreas evaluadas en este estudio es similar a lo reportado en otros estudios (Cuadro 2). De acuerdo con Gómez-Fuentes-Galindo *et al.* (2017), *B. divaricata* presenta menor contenido de FDN (46%) y mayor contenido de PC (12.8%) que gramíneas como *Panicum máximum* o *Paspalum langei* los cuales poseen en promedio 70% de FDN y 6.5% de PC, características que podrían favorecer un mayor consumo voluntario y una tasa de pasaje más rápida. Otros autores han reportado que *B. divaricata* posee entre 12 y 18% de PC, entre 30 y 40% de digestibilidad ruminal *in vitro*, entre 1.5 y 3.8% de taninos, y presencia de saponinas y alcaloides (Albores-Moreno *et al.*, 2018; Cab-Jiménez *et al.*, 2018; Gómez-Fuentes-Galindo *et al.*, 2017; Sosa-Rubio *et al.*, 2004). Respecto a *M. calabura*, es prácticamente nula la información nutricional. Kongvongxay *et al.* (2011) reportaron que las hojas de *M. calabura* contienen 13% de PC, pero señalan que se sabe muy poco sobre su valor nutritivo ya que es poco utilizada para alimentar animales. En relación al contenido de metabolitos secundarios, se ha reportado que sus



frutos (Pereira *et al.*, 2018) y hojas (Pujaningsih *et al.*, 2018) contienen compuestos bioactivos con actividad antioxidante y antimicrobiana, entre los cuales destacan diversos compuestos fenólicos, entre ellos antocianinas y flavonoides.

Degradabilidad *in vitro* de la materia seca

En el Cuadro 3 se presentan los resultados de la DMS a las 24 y 72 h de los follajes de *M. calabura* y *B. divaricata* solos y combinados con *Pennisetum* sp., observándose diferencias entre los tratamientos ($P \leq 0.05$). Los tratamientos con la mayor DMS a las 24 h fueron BdP, seguida por P y Bd; no obstante, a las 72 h fueron P, seguido de BdP y McP. El follaje solo de *M. calabura* tuvo la DMS más baja en ambos horarios, lo cual concuerda con lo reportado por Puspitaning (2012), quien menciona que la utilización de 20% de *M. calabura* en la dieta disminuye la DMS. Por otro lado, la DMS de *B. divaricata* fue mayor (53%) que la reportada por otros autores (32 y 39%) (Albores-Moreno *et al.*, 2018; Sosa-Rubio *et al.*, 2004).

Cuadro 3. Degradabilidad *in vitro* de la materia seca de los follajes de *Muntingia calabura* y *Bauhinia divaricata* solos y combinados con *Pennisetum* sp

Tratamiento	DMS (mg/g MS)	
	24h	72h
Mc	231.62 ^c	404.57 ^d
Bd	404.78 ^{ab}	528.85 ^c
McP	377.86 ^b	570.71 ^b
BdP	461.82 ^a	592.52 ^{ab}
P	422.86 ^{ab}	628.33 ^a
E.E.M	18.41	13.31

P=*Pennisetum* sp. (100%); Mc=*M. calabura* (100%); Bd= *B. divaricata* (100%); McP= *M. calabura* (30%)/*Pennisetum* sp. (70%), y BdP= *B. divaricata* (30%)/*Pennisetum* sp. (70%); E.E.M: Error estándar de la media; ^{a, b, c, d} literales diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

Kamalak *et al.* (2004) concluye que el contenido de paredes celulares en los forrajes afecta negativamente los parámetros de fermentación ruminal. Por su parte, Zhang *et al.* (2017) enfatiza que la incorporación del follaje de algunas especies de árboles y arbustos tropicales en las dietas de rumiantes basadas en gramíneas incrementa el contenido de PC y disminuye el contenido total de carbohidratos estructurales en la dieta. Tales afirmaciones fueron parcialmente observadas en este estudio. Los tratamientos Mc y Bd (correspondientes a los follajes solos) tuvieron $\approx 33\%$ menos contenido de FDN y $\approx 57.5\%$ más contenido de PC, comparado con P, lo cual es similar a lo reportado por Gómez-Fuentes-Galindo *et al.* (2017), quienes reportaron un contenido de FDN y PC del 46.5% y 12.8% respectivamente, para *B. divaricata*. Sin embargo, el menor contenido de FDN y mayor de PC de *M. calabura* y *B. divaricata* no mejoró la DMS, lo que contrasta con los reportado para otros follajes, tales como de *L. leucocephala*, la cual aumenta 18% la DMS cuando se incluye al 25% en dietas de bovinos basadas con gramíneas (Molina *et al.*,



2015). En el presente estudio, la inclusión de *M. calabura* afectó negativamente la DMS ($P \leq 0.05$), ya que en el tratamiento McP fue 10% menor que en P.

Producción de gas *in vitro*

La PG se presenta en la Figura 1. No hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) durante las 72 h de fermentación entre los tratamientos Bd, BdP, McP y P, los cuales tuvieron una PG acumulada promedio de 439 mL/g MS; sin embargo, sí hubo diferencias significativas ($P \leq 0.05$) con Mc que tuvo una PG acumulada de 283.49 mL/g MS. [Albores-Moreno et al. \(2018\)](#) reportaron una PG de 200.59 mL/g materia orgánica a las 72h con follaje de *B. divaricata*, lo cual es 53% menor que lo observado en el presente estudio. Por otro lado, la PG de follaje de *M. calabura* reportada por [Silivong et al. \(2013\)](#) fue de 269 mL/g MS a las 24 h, 166% mayor que lo obtenido con Mc. Estas variaciones en la PG se puede atribuir a las diferencias en la composición de los forrajes, generalmente cuando presentan concentraciones altas de PC, fibra y contenido de polifenoles ([Vargas et al., 2012](#)). En nuestro estudio, Mc fue el tratamiento con la más baja PG y menor degradabilidad.

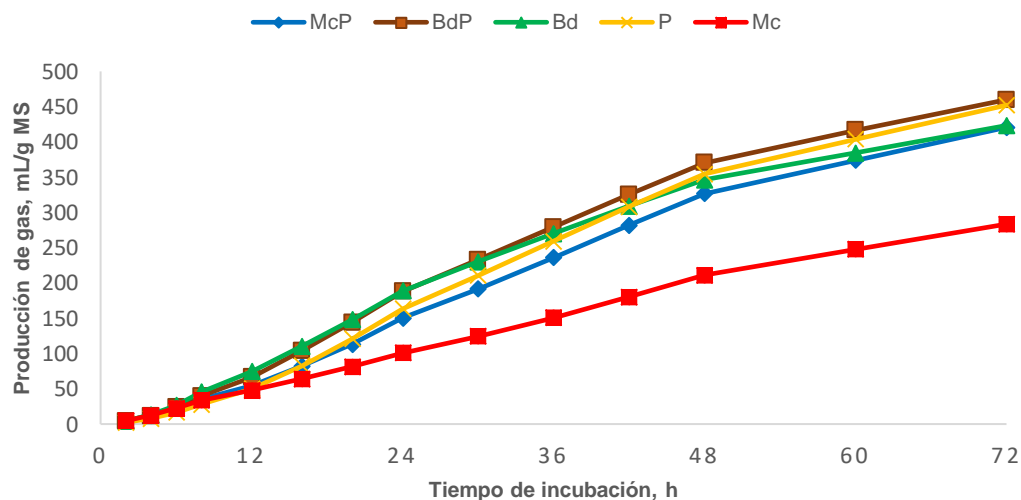


Figura 1. Producción de gas de follajes de *Muntingia calabura* y *Bauhinia divaricata* solos y combinados con *Pennisetum* sp. Dónde: P=*Pennisetum* sp. (100%); Mc=*M. calabura* (100%); Bd= *B. divaricata* (100%); McP= *M. calabura* (30%)/*Pennisetum* sp. (70%), y BdP= *B. divaricata* (30%)/*Pennisetum* sp. (70%).

Características de la fermentación *in vitro* y producción CH_4 y CO_2

Los resultados de V_{\max} , S, L, producción de CH_4 y CO_2 , EM y FP se muestran en el Cuadro 4. El V_{\max} y S del tratamiento Mc fue significativamente menor ($P \leq 0.05$) que el resto de los tratamientos; sin embargo, la L de Bd y Mc (los tratamientos de follaje solo) fue alrededor de 20% menor que la L de los tratamientos McP, BdP y P. Respecto a la



producción CH₄ también hubo diferencias significativas ($P \leq 0.05$), observándose que Mc fue el tratamiento con la mayor producción de CH₄, mientras que Bd y BdP los de menor producción. En relación al contenido de EM, se observó que los valores más elevados los presentaron Bd y BdP, siendo cercanos a 2 Mcal/kg MS, los cuales fueron significativamente diferentes ($P \leq 0.05$) a los tratamientos Mc y McP, con 1.5 Mcal/kg MS en promedio. No hubo diferencias ($P > 0.05$) en el FP a las 24 h, pero sí a las 72 h ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos con el follaje solo, siendo mayor con Mc y menor con Bd.

Cuadro 4. Características de la fermentación *in vitro* y producción CH₄ y CO₂ de los follajes de *Muntingia calabura* y *Bauhinia divaricata* solos y combinados con *Pennisetum* sp

Variable	Tratamiento					E.E.M
	Mc	Bd	McP	BdP	P	
Vmax, mL/g MS	288.28 ^b	403.71 ^a	414.88 ^a	444.28 ^a	439.47 ^a	10.88
S, h ⁻¹	0.019 ^c	0.025 ^a	0.022 ^b	0.02 ^{ab}	0.024 ^{ab}	0.00
L, h	8.829 ^{bc}	7.63 ^c	10.602 ^{ab}	9.24 ^{abc}	11.426 ^a	0.32
CO ₂ , % 24h	85.30 ^d	96.38 ^a	89.88 ^{bcd}	92.78 ^{ab}	87.86 ^{cd}	0.94
CH ₄ , % 24h	14.70 ^a	3.62 ^d	10.12 ^{bcd}	7.22 ^{cd}	12.04 ^{ab}	0.94
CO ₂ , mL/g MS 24h	350.22	332.23	339.79	367.23	365.70	11.12
CH ₄ , mL/g MS 24h	60.33 ^a	16.56 ^c	45.12 ^{ab}	28.20 ^{bc}	50.21 ^a	4.04
EM, Mcal/kg MS	1.37 ^d	1.95 ^a	1.61 ^c	1.86 ^{ab}	1.67 ^{bc}	0.04
FP 24h*	3.18	2.58	3.05	2.86	3.06	0.09

P=*Pennisetum* sp. (100%); Mc=*M. calabura* (100%); Bd= *B. divaricata* (100%); McP= *M. calabura* (30%)/*Pennisetum* sp. (70%), y BdP= *B. divaricata* (30%)/*Pennisetum* sp. (70%). Vmax: Volumen máximo; FP: Factor de partición (mg MS degradada/mL de gas producido); L: fase lag; S: tasa de fermentación; EM: Energía metabolizable; DIVMS: Digestibilidad *in vitro* de la materia seca; E.E.M: Error estándar de la media. ^{a, b, c}, literales diferentes en una misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$). * mg MS degradada /mL gas producido a las 24 horas.

El comportamiento de la fermentación ruminal depende la disponibilidad de los carbohidratos presentes en los forrajes (Zhang *et al.*, 2017), por lo que en este estudio, los tratamientos con mayor Vmax de PG podrían estar relacionados con una mayor degradación de los carbohidratos estructurales presentes en el follaje. Mientras que el bajo Vmax en Mc puede deberse a una baja concentración de la fracción soluble del alimento, disminuyendo la cantidad de gas producido. Además, es probable que la presencia de MSec como saponinas y flavonoides, hayan afectado la fermentación de la MS y, por ende, la PG. Estos MSec interactúan directamente sobre la función de la membrana citoplásmica de los microorganismos ruminales inhibiendo la síntesis de la pared celular, creando un efecto de defaunación, con lo cual se disminuyen los protozoarios y por consiguiente, las arqueas metanogénicas asociadas a ellos disminuyendo así la metanogénesis ruminal. En el rumen, los protozoarios se encuentran asociados a las arqueas metanogénicas y su relación puede generar entre el 9 y el 37%



de las emisiones totales del CH₄ entérico producido por los rumiantes (Rivera *et al.*, 2018; Vargas *et al.*, 2012). Por su parte, Velez-Terranova *et al.* (2014) y Lakhani & Lakhani, 2018 señalan que las plantas que tienen un alto contenido de flavonoides disminuyen la producción de CH₄ e inducen a una estimulación extensa del metabolismo microbiano en el rumen, que aumenta tanto la degradabilidad de la PC como los constituyentes de la pared celular, al mejorar la fermentación hasta un 50%. En este sentido, Silivong *et al.* 2013 reportaron que la producción de CH₄ en la fermentación *in vitro* de *M. calabura* fue de sólo 3.8%, concentración considerablemente menor que lo obtenido para *L. leucocephala* (7.8%) o *G. sepium* (15.6%), lo cual contrasta con lo reportado en este estudio, en el cual el análisis químico preliminar mostró que el follaje solo de *M. calabura* tiene alta presencia de saponinas y flavonoides, y presencia moderada de taninos derivados del ácido gálico; no obstante, en el ensayo *in vitro* el gas producido con Mc tuvo una mayor concentración de CH₄, cercana al 15%.

Cuadro 5. Concentración de ácidos grasos volátiles de la fermentación ruminal *in vitro* de los follajes de *Muntingia calabura* y *Bauhinia divaricata* solos y combinados con *Pennisetum sp*

AGV	Tratamiento					E.E.M
	Mc	Bd	McP	BdP	P	
Ácido acético	46.20 ^a	38.01 ^b	38.76 ^{ab}	39.35 ^{ab}	42.53 ^a	0.997
Ácido propiónico	26.16	26.03	26.87	27.40	28.95	0.487
Ácido butírico	19.54	18.84	22.30	21.00	20.01	0.457
Ácido isobutírico	3.10	3.64	4.13	4.59	2.63	0.247
Ácido valérico	2.32	3.74	3.31	3.08	2.48	0.165
Ácido isovalérico	2.68 ^a	5.16 ^b	4.64 ^{ab}	4.59 ^{ab}	3.40 ^{ab}	0.271

P=*Pennisetum sp.* (100%); Mc=*M. calabura* (100%); Bd= *B. divaricata* (100%); McP= *M. calabura* (30%)/*Pennisetum sp.* (70%), y BdP= *B. divaricata* (30%)/*Pennisetum sp.* (70%); E.E.M: Error estándar de la media. ^{a, b, c}, literales diferentes en una misma fila indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05).

Ácidos grasos volátiles

No se observaron diferencias significativas (P>0.05) en la concentración de AGV, excepto de ácido acético entre Mc y P con Bd, y de isovalérico entre Mc y Bd (P≤0.05; Cuadro 5). Son inexistentes los estudios que evalúen la producción de AGV de la fermentación ruminal utilizando como sustrato *M. calabura* o *B. divaricata*; sin embargo, la modificación en la producción ruminal de AGV puede estar influenciada por la presencia de MSec en la dieta. Al respecto, Broudiscou & Lassalas, (2000) realizaron un estudio donde evaluaron el efecto de extractos secos de *Lavandula officinalis* y *Equisetum arvense*, dos especies conocidas por el alto contenido de flavonoides, sobre la fermentación ruminal *in vitro* encontrando que el uso del extracto de ambas especies mejoró la tasa de fermentación en un 50%, al aumentar la producción de acetato y propionato, reduciendo de esta manera la producción de CH₄. En el presente estudio el follaje de *M. calabura*



mostró un alto contenido de flavonas, mientras que en el follaje de *B. divaricata* fue bajo, lo cual pudo influir en la mayor concentración de ácido acético en el tratamiento con Mc. Por otro lado, la mayor concentración de ácido isovalérico en Bd pudo ser a causa del mayor contenido de PC de este follaje (casi 15% en BS), el cual se produce a partir de la descarboxilación y desaminación de la leucina, un aminoácido de cadena ramificada (Apajalahti *et al.*, 2019).

CONCLUSIÓN

El uso de follaje de *B. divaricata* con *Pennisetum* sp. disminuyó la producción y concentración de CH₄ y tiene un mayor contenido de EM, sin afectar negativamente otras variables de fermentación ruminal. Por lo anterior, la adición *B. divaricata* en la dieta de rumiantes representa una alternativa alimenticia que puede disminuir la producción de CH₄ de la fermentación ruminal del ganado bovino en las regiones tropicales. No obstante, dada la escasa información al respecto, se recomienda ampliamente llevar a cabo más estudios que así lo confirmen.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) de México por la beca otorgada a Adrián Adolfo Sandoval-Pelcastre, así como el financiamiento al proyecto 417 “Análisis transcriptómico de la microbiota ruminal de bovinos alimentados con forrajes tropicales y su correlación con la producción de gases de efecto invernadero” de la Convocatoria para Atender Problemas Nacionales 2015, otorgado a la Dra. Mónica Ramírez-Mella.

LITERATURA CITADA

ALBORES-MORENO S, Alayón-Gamboa JA, Miranda-Romero LA, Jiménez-Ferrer G, Ku-Vera JC, Vargas-Villamil L. 2018. Nutritional composition, *in vitro* degradation and potential fermentations of tree species grazed by ruminants in secondary vegetation (acahual) of deciduous forest. *The Journal of Animal & Plant Science*. 28(5):1263-1275. ISSN: 2309-8694. <http://www.thejaps.org.pk/docs/v-28-05/06.pdf>

ANANTASOOK N, Wanapat M, Cherdthong A, Gunun P. 2013. Changes of microbial population in the rumen of dairy steers as influenced by plant containing tannins and saponins and roughage to concentrate ratio. *Asian Australasian Journal of Animal Science*. 26(11): 1583–1591. ISSN: 1011-2367. <https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13182>

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2006. *Official methods of analysis*. 18. ed. Arlington, VA, USA: AOAC International. ISBN: 978-0-035584-77-6.



APAJALAHTI J, Vienola K, Raatikainen K, Holder V, Moran CA. 2019. Conversion of branched-chain amino acids to corresponding isoacids—an *in vitro* tool for estimating ruminal protein degradability. *Frontiers in Veterinary Science*. 6:311. ISSN: 2297-1769. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00311>

BODAS R, Prieto N, García-González R, Andrés S, Giráldez FJ, López S. 2012. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*. 176(1-4):78-93. ISSN: 0377-8401. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.010>

BROUDISCOU L, Lassalas B. 2000. Effects of *Lavandula officinalis* and *Equisetum arvense* dry extracts and isoquercitrin on the fermentation of diets varying in forage contents by rumen microorganisms in batch culture. *Reproduction Nutrition Development*. 40(5):431-440. ISSN: 0926-5287. <https://doi.org/10.1051/rnd:2000110>

CAB-JIMÉNEZ FE, Ortega-Cerrilla ME, Quero-Carrillo AR, Enríquez-Quiroz JF, Vaquera-Huerta H, Carranco-Jauregui ME. 2018. Composición química y digestibilidad de algunos árboles tropicales forrajeros de Campeche, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 11:2199-2204. ISSN: 2007-9230. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i11.798>

DELGADO DC, Galindo J, González R, González N, Scull I, Dihigo L, Cairo J, Aldama A I, Moreira O. 2012. Feeding of tropical trees and shrub foliages as a strategy to reduce ruminal methanogenesis: Studies conducted in Cuba. *Tropical Animal Health and Production*. 44(5):1097-1104. ISSN: 0049-4747. <https://doi.org/10.1007/s11250-011-0045-5>

ERWIN ES, Marco GJ, Emery EM. 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science*. 44(9):1768-1771. ISSN: 0022-0302. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(61\)89956-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(61)89956-6)

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2017. *Assessment of greenhouse gas emissions and mitigation potential. Global Livestock Environmental Assessment Model (GLEAM)*. <https://www.fao.org/gleam/en/>

GARCÍA E. 2004. *Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen*. Quinta edición. DF, México: Instituto de Geografía-Universidad Nacional Autónoma de México. ISBN: 970-32-1010-4. <http://www.publicaciones.igg.unam.mx/index.php/ig/catalog/view/83/82/251-1>

GARNETT T. 2010. Livestock and climate change. En: D'Silva J, Webster J. *The meat crisis: Developing more sustainable production and consumption*. Londres, Reino Unido: Earthscan. Pp. 34-56. ISBN: 978-1-84407-902-5. <https://doi.org/10.4324/9781315562032>



GÓMEZ-FUENTES-GALINDO T, González-Rebeles C, López-Ortiz S, Ku-Vera JC, Albor-Pinto CDJ, Sangines-García JR. 2017. Dominancia, composición química-nutritiva de especies forrajeras y fitomasa potencial en una selva secundaria. *Agricultura Sociedad y Desarrollo*. 14(4):617. ISSN: 2594-0244. <http://dx.doi.org/10.22231/asyd.v14i4.699>

GUIL-GUERRERO JL, Ramos L, Moreno C, Zúñiga-Paredes JC, Carlosama-Yepez M, Ruales P. 2016. Antimicrobial activity of plant-food by-products: a review focusing on the tropics. *Livestock Science*. 189:32-49. ISSN: 1871-1413. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2016.04.021>

HAQUE MN. 2018. Dietary manipulation: A sustainable way to mitigate methane emissions from ruminants. *Journal of Animal Science and Technology*. 60(1):15. ISSN: 2055-0391. <https://doi.org/10.1186/s40781-018-0175-7>

HOOK SE, Wright ADG, McBride BW. 2010. Methanogens: Methane producers of the rumen and mitigation strategies. *Archaea*. 1(11). ISSN: 1472-3636. <https://doi.org/10.1155/2010/945785>

JOHNSON KA, Johnson DE. 1995. Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*. 73(8):2483-2492. ISSN: 0021-8812. <https://doi.org/10.2527/1995.7382483x>

KAMALAK A, Canbolat O, Gurbuz Y, Ozay O, Ozcan CO, Sakarya M. 2004. Chemical composition and in vitro gas production characteristics of several tannin containing tree leaves. *Livestock Research for Rural Development*. 16(6):60-67. ISSN: 0121-3784. <http://www.lrrd.org/lrrd16/6/kama16044.htm>

KHOLIF AE, Elghandour MMY, Rodríguez GB, Olafadehan OA, Salem AZM. 2017. Anaerobic ensiling of raw agricultural waste with a fibrolytic enzyme cocktail as a cleaner and sustainable biological product. *Journal of Cleaner Production*. 142: 2649-2655. ISSN: 0959-6526. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.11.012>

KONGVONGXAY S, Preston TR, Leng RA, Khang DN. 2011. Effect of a tannin-rich foliage (*Mimosa pigra*) on feed intake, digestibility, N retention and methane production in goats fed a basal diet of *Muntingia calabura*. *Livestock Research for Rural Development*. 23. ISSN: 0121-3784. <http://www.lrrd.org/lrrd23/3/sito23048.htm>

LAKHANI N, Lakhani P. 2018. Plant secondary metabolites as a potential source to inhibit methane production and improve animal performance. *International Journal of Chemical Studies*. 6(3):3375-3379. ISSN: 2321-4902. <https://www.chemijournal.com/archives/2018/vol6issue3/PartAW/6-3-425-872.pdf>

MEALE SJ, Chaves AV, Baah J, McAllister TA. 2012. Methane Production of Different Forages in *In vitro* Ruminant Fermentation. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 25(1):86-91. ISSN: 1011-2367. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.11249>



MENKE KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *The Journal of Agricultural Science*. 93(1): 217-222. ISSN: 0021-8596.

<https://doi.org/10.1017/S0021859600086305>

MOLINA IC, Donneys G, Montoya S, Rivera JE, Villegas G, Chará J, Barahona R. 2015. La inclusión de *Leucaena leucocephala* reduce la producción de metano de terneras Lucerna alimentadas con *Cynodon plectostachyus* y *Megathyrsus maximus*. *Livestock Research for Rural Development*. 27(5):96. ISSN: 0121-3784.

<http://www.lrrd.org/lrrd27/5/moli27096.html>

ONU (Organización de la Naciones Unidas). 2019. *Población*.

<https://www.un.org/es/sections/issues-depth/population/index.html>

PANG Z, Chen J, Wang T, Gao C, Li Z, Guo L, Xu J, Cheng Y. 2021. Linking plant secondary metabolites and plant microbiomes: A review. *Frontiers in Plant Science*. 12:621276. ISSN: 1664-462X. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.621276>

PATRA A, Park T, Kim M, Yu Z. 2017. Rumen Methanogens and Mitigation of Methane Emission by Anti-Methanogenic Compounds and Substances. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 8(1): 13. ISSN: 2049-1891. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0145-9>

PEREIRA GA, Arruda HS, de Moraes DR, Eberlin MN, Pastore GM. 2018. Carbohydrates, volatile and phenolic compounds composition, and antioxidant activity of calabura (*Muntingia calabura* L.) fruit. *Food Research International*. 108:264-273. ISSN: 0963-9969. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.046>

PUJANINGSIH RI, Sulistiyanto B, Sumarsih S. 2018. Observation of *Muntingia calabura*'s leaf extract as feed additive for livestock diet. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 119:12-19. ISSN: 1755-1307. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/119/1/012019>

PUSPITANING IR. 2012. *Protozoal population and rumen fermentation characteristics of diet with Muntingia calabura leaves addition in vitro* [Licenciatura, Institut Pertanian Bogor]. <https://123dok.com/document/1y9mm8jq-protozoal-population-fermentation-characteristics-muntingia-calabura-leaves-addition.html>

RIVERA JE, Chará J, Gomez-Leyva JF, Ruíz T, Barahona R. 2018. Variabilidad fenotípica y composición fitoquímica de *Tithonia diversifolia* A. Gray para la producción animal sostenible. *Livestock Research for Rural Development*. 30(12). ISSN: 0121-3784. <http://www.lrrd.org/lrrd30/12/rive30200.html>



RIVERA JE, Molina IC, Donneys G, Villegas G, Chará J, Barahona R. 2015. Dinámica de fermentación y producción *in vitro* de metano en dietas de sistemas silvopastoriles intensivos con *L. leucocephala* y sistemas convencionales orientados a la producción de leche. *Livestock Research for Rural Development*. 27(4):1-15. ISSN: 0121-3784. <http://www.lrrd.org/lrrd25/1/phon25015.htm>

ROEHE R, Dewhurst RJ, Duthie CA, Rooke JA, McKain N, Ross DW, Hyslop JJ, Waterhouse A, Freeman TC, Watson M, Wallace RJ. 2016. Bovine host genetic variation influences rumen microbial methane production with best selection criterion for low methane emitting and efficiently feed converting hosts based on metagenomic gene abundance. *PLOS Genetics*. 12(2): e1005846. ISSN: 1553-7404. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005846>

SAS Institute. 2004. *Statistical Analysis Software SAS/STAT®*. version 9.1, Cary, N.C., USA: SAS Institute Inc., ISBN: 978-1-59047-243-9. http://www.sas.com/en_us/software/analytics/stat.html#

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio. NOM-062-ZOO-1999, México: Diario Oficial de la Federación. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf

SILIVONG P, Hervasen B, Preston TR. 2013. Methane production from Jack fruit, Muntingia, Leucaena, Gliricidia (*Gliricidia sepium*), Mimosa (*Mimosa pigra*) and *Acacia auriculiformis* foliages in an *in vitro* incubation with potassium nitrate as source of NPN. *Livestock Research for Rural Development*. 25(1). ISSN: 0121-3784. <http://www.lrrd.org/lrrd25/1/phon25015.htm>

SOSA-RUBIO EE, Pérez-Rodríguez D, Ortega-Reyes L, Zapata-Buenfil G. 2004. Evaluación del potencial forrajero de árboles y arbustos tropicales para la alimentación de ovinos. *Técnica Pecuaria México*. 42(2):129-144. ISSN: 0040-1889. <https://www.redalyc.org/pdf/613/61342201.pdf>

THEODOROU MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB, France J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 48(3-4):185-197. ISSN: 0377-8401. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90171-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6)

UGBOGU EA, Elghandour MMY, Ikpeazu VO, Buendía GR, Molina OM, Arunsi UO, Emmanuel O, Salem AZM. 2019. The potential impacts of dietary plant natural products on the sustainable mitigation of methane emission from livestock farming. *Journal of Cleaner Production*. 213, 915–925. ISSN: 0959-6526. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.12.233>



VALENCIA-DEL TORO G, Garín-Aguilar ME. 2010. *Manual de Prácticas de Productos Naturales*. Instituto Politécnico Nacional. DF, México.

VAN SOEST PJ, Robertson JB, Lewis BA. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74(10):3583-3597. ISSN: 0022-0302. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)

VARGAS J, Cárdenas E, Pabón M, Carulla J. 2012. Emisión de metano entérico en rumiantes en pastoreo. *Archivos de Zootecnia*. 61. ISSN: 1885-4494. <https://doi.org/10.21071/az.v61i237.2958>

VELEZ-TERRANOVA M, Campos-Gaona R, Sánchez-Guerrero H. 2014. Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 17(3):489-499. ISSN: 1870-0462. <https://www.redalyc.org/pdf/939/93935728004.pdf>

ZHANG X, Zhang H, Wang Z, Zhang X, Zou H, Tan C, Peng Q. 2017. Effects of dietary carbohydrate composition on rumen fermentation characteristics and microbial population *in vitro*. *Italian Journal of Animal Science*. 14(3):489-499. ISSN: 1870-0462. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.3366>

[Errata Erratum](#)

<https://abanicoacademico.mx/revistasabanico-version-nueva/index.php/abanico-veterinario/errata>