



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE MEXICO
CENTRO UNIVERSITARIO UAEM TEMASCALTEPEC
LICENCIATURA EN INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA**

**RESPUESTA PRODUCTIVA DE OVINOS DE PELO SUPLEMENTADOS
CON HOJAS DE *Acacia cochliacantha* (P.) ENGORDADOS EN CORRAL**

TESIS

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE INGENIERO
AGRÓNOMO ZOOTECNISTA**

PRESENTA

SABINO VENCES AGUIRRE

DIRECTOR DE TESIS

DR. ROLANDO ROJO RUBIO

TEMASCALTEPEC DE GONZÁLES, MEXICO, NOVIEMBRE 2021

CONTENIDO

| | |
|---|-----------|
| RESUMEN | 3 |
| INTRODUCCIÓN | 4 |
| I. OBJETIVOS | 6 |
| Objetivo general..... | 6 |
| Objetivos específicos..... | 7 |
| II. HIPOTESIS | 8 |
| III. JUSTIFICACION | 9 |
| IV. REVISIÓN DE LITERATURA | 10 |
| 5.1. Antecedentes de la ovinocultura en México | 10 |
| 4.2. Situación actual de le producción ovina en México | 11 |
| 4.3. Producción de carne de ovino | 12 |
| 4.4. Sistemas de producción ovina..... | 14 |
| 4.4.1. Sistema intensivo | 15 |
| 4.4.2. Sistema semi-intensivo | 17 |
| 4.5. Uso de árboles forrajeros en la alimentación de ovinos | 17 |
| 4.6. Fitoquímicos | 20 |
| 4.6.1. Síntesis | 21 |
| 4.6.2. Tipos de fitoquímicos | 22 |
| 4.6.3. Compuestos fenólicos | 22 |
| 4.6.4. Fenoles simples | 23 |
| 4.6.5. Fenoles ácidos..... | 23 |
| 4.7. Efecto de los taninos sobre la degradación ruminal y absorción de nutrientes..... | 26 |
| 4.7.1. Digestibilidad de la Materia Orgánica (MO)..... | 27 |
| 4.7.2. Efecto de los TC sobre la digestibilidad de la PC..... | 28 |
| 4.7.3. Degradación de carbohidratos..... | 29 |
| 4.7.4. Degradación y absorción de lípidos | 29 |
| 4.7.5. Producción y absorción de AGV´s | 30 |
| 4.7.6. Efecto sobre la absorción de minerales..... | 31 |
| 4.7.7. Efecto de los TC sobre la microbiota ruminal | 32 |
| 4.7.8. Bacterias..... | 33 |
| 4.7.9. Hongos | 34 |
| 4.7.10. Protozoarios | 34 |

| | | |
|------------------|---|-----------|
| 4.7.11. | Efecto sobre la producción animal..... | 35 |
| 4.7.12. | Efecto de los TC sobre el medio ambiente..... | 36 |
| 4.8. | Acacia cochliacantha Willd. (Cubata)..... | 37 |
| Cuadro 1. | Datos taxonómicos de <i>Acacia cochliacantha</i> (Willd) | 38 |
| | Descripción..... | 38 |
| 4.8.1. | Distribución | 39 |
| 4.8.2. | Usos..... | 39 |
| 4.8.3. | Valor nutritivo | 39 |
| V. | MATERIALES Y MÉTODOS | 40 |
| 5.2. | Sitio experimental | 40 |
| 6.3. | Colección del material vegetal | 40 |
| 6.3. | Prueba de respuesta productiva..... | 41 |
| 6.4. | Animales, manejo y tratamientos | 41 |
| 6.5. | Alimentación..... | 42 |
| 6.6. | Comportamiento productivo de los animales | 43 |
| 6.7. | Variables respuesta | 44 |
| 6.8. | Diseño experimental..... | 44 |
| 6.9. | Análisis estadístico | 45 |
| VI. | RESULTADOS | 46 |
| VIII. | CONCLUSIÓN | 49 |
| IX. | ANEXOS..... | 50 |
| | Técnicas de laboratorio | 50 |
| X. | LITERATURA CITADA..... | 73 |

RESUMEN

Se realizó un experimento, para evaluar el efecto de la inclusión de hojas de *Acacia cochliacantha* (P) en dietas para ovinos en la etapa de finalización en un periodo de 30 días, para determinar consumos de materia seca, ganancia diaria de peso, conversión alimenticia y finalmente evaluar el peso al final del experimento. Se utilizaron 21 ovinos machos todos de una sola cruce Dorper-Pelibuey con un peso inicial de 43.6 ± 3 kg, previamente se prepararon 21 jaulas elevadas para alojar ahí los animales individualmente, previendo a cada uno con un comedero y un bebedero individual para una toma correcta de los datos. Se preparó la dieta donde se asignaron tres tratamientos: T1 control, T2 0.25, T3 0.5 % de inclusión de hojas deshidratadas de *Acacia cochliacantha* (P). Una vez adaptados a los borregos a la dieta durante un periodo de 15 días y de igual forma desparasitados y vitaminados, se procedió a la asignación de los tratamientos distribuidos en bloques completos al azar.

De acuerdo a los resultados, se observó un efecto cuadrático sobre la GDP y GTP, donde el T2 obtuvo la mejor ganancia de peso. Por otro lado, para las variables CA y EA se observó un efecto lineal. Es decir, a medida que se incrementó la adición de *A. cochliacantha*, aumento la eficiencia alimenticia, por el contrario, a medida que se incrementa el consumo de MS disminuye. De acuerdo con los resultados la suplementación de hojas de *A. cochliacantha* como fuente de TCL, que se utilizaron en este trabajo, se mejoran los parámetros productivos de ovinos en finalización.

INTRODUCCIÓN

Los pequeños rumiantes son de suma importancia, ya que juegan un papel importante en el ganado debido a que son indispensables para la utilización de los recursos alimenticios disponibles para la población y proporcionan medios prácticos para usar grandes proporciones de pastizales donde la población no practica la agricultura (Hernández et al., 2014).

La producción tradicional de borregos en México, se ha desarrollado principalmente como una actividad secundaria, sin embargo, en los últimos años se ha convertido en una actividad principal en algunas regiones. A pesar de este cambio, el país aún sigue siendo deficitario en la producción de carne de borrego, teniendo que recurrir a las importaciones, principalmente de carne congelada (Gómez- Vázquez et al., 2015). En este sentido, ha sido necesario orientar la producción de esta especie a la producción de corderos para abasto con el fin de competir en calidad y precio contra las importaciones, así como cubrir las demandas del consumo nacional. La producción de borrego para abasto en sistemas de producción intensivo, demanda una fuerte inversión principalmente por los costos de alimentación que generalmente lo constituyen granos como el sorgo, maíz, pasta de soya, pasta de canola, pre mezcla de vitaminas y minerales entre otros que ocasiona baja rentabilidad de esta actividad.

El uso de recursos forrajeros locales constituye una alternativa para la alimentación en la etapa de finalización de ovinos, ya que pueden proveer una fuente de nutrientes de alta calidad, estos recursos forrajeros los constituyen principalmente las leguminosas arbóreas y arbustivas las cuales poseen generalmente un alto contenido proteico y buena digestibilidad. Adicionalmente este tipo de plantas tiene la capacidad de desarrollar compuestos producto del metabolismo secundario, conocidos como compuestos secundarios, o metabolitos secundarios, los cuales deben ser estudiados ya que se ha identificado que

pueden tener efectos tanto benéficos como perjudiciales para la salud y nutrición de los animales que los consumen.

A los compuestos secundarios que han demostrado efecto benéfico al ser consumidos por organismos herbívoros, se conocen como fitoquímicos o fitonutrientes, dentro de este grupo de metabolitos secundarios sobresalen los Taninos Condensados (TC) a los que se les atribuye la capacidad de mejorar la eficiencia de utilización de la proteína principalmente, ya que forman complejos estables a nivel ruminal, actuando como protector de la proteína ante la acción de los microorganismos ruminales, permitiendo un aumento en el pool de aminoácidos que llegan al intestino delgado (Orlandi *et al.*, 2015). El interés por conocer el efecto de los TC de las leguminosas forrajeras, principalmente arbóreas y arbustivas, en la alimentación de rumiantes ha conducido a desarrollar proyectos de investigación que permitan conocer plantas con potencial para ser utilizadas como aditivos en las dietas para rumiantes (Zarza-Albarrán, 2016). Considerando lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la inclusión en la dieta de diferentes niveles de hoja deshidratada de *Acacia cochliacantha* (P) sobre la respuesta productiva de ovinos engordados en corral.

I. OBJETIVOS

Objetivo general.

Determinar el efecto de la inclusión de hojas de *Acacia cochliacantha* (P) como fuente de fitoquímicos, para ser utilizada en dietas para ovinos engordados en corral, sobre los parámetros productivos, bajo un sistema de explotación intensivo.

Objetivos específicos.

1. Determinar el consumo de materia seca de ovinos engordados en corral, utilizando follaje de *A. cochliacantha* como fuente de fitoquímicos.
2. Cuantificar la ganancia diaria de peso y ganancia total de peso de ovinos engordados en corral, utilizando follaje de *A. cochliacantha* como fuente de fitoquímicos adicionados a la dieta.
3. Determinar la conversión alimenticia de ovinos engordados en corral, utilizando *A. cochliacantha* como fuente de fitoquímicos adicionados a la dieta.

II. HIPOTESIS

El uso de hojas de *Acacia cochliacantha* (P), como aditivo en dietas para ovinos en engorda, bajo un sistema intensivo, modificará los parámetros productivos.

III. JUSTIFICACION

La producción de carne de ovinos en condiciones de trópico seco se encuentra limitado a la disponibilidad de recursos forrajeros, ya que la marcada estacionalidad limita el crecimiento de los forrajes tradicionales durante la mayor parte del año. Sin embargo, la presencia de plantas arbóreas y arbustivas representa una alternativa nutritiva ya que mantiene su producción de hojas y frutos durante esta época, además, produce compuestos derivados del metabolismo secundario los cuales pueden tener actividad nutracéutica que podrían beneficiar a la nutrición y salud de los animales. Sin embargo, su uso en la alimentación animal ha sido objeto de una explotación marginal, por una parte, se debe al desconocimiento, falta de investigación y estudio del potencial nutritivo que muchas de estas plantas poseen, pese a que la mayoría de estas plantas crecen de manera silvestre y han prevalecido durante muchos años. Esta situación obliga a productores, investigadores, académicos a realizar de manera conjunta esfuerzos, para realizar proyectos y trabajos que se fundamenten en la investigación científica, con la finalidad de encontrar soluciones y alternativas que permitan incrementar de manera significativa la producción ovina del país, ante la creciente demanda de este producto.

Este proyecto tiene una enorme relevancia en la zona ganadera de la región, debido a que actualmente, se han incrementado de manera exorbitante los costos de alimentación, que ya rebasan el 75% del gasto total de producción, sin embargo, se pretende que esta investigación, permita encontrar mejoras en la respuesta productiva del ganado ovino y poder ofrecer a productores mejores alternativas de alimentación, bajando los costos de producción, para lograr con ello mejores recursos para los productores y sus familias.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

5.1. Antecedentes de la ovinocultura en México

Los ovinos domésticos que existen actualmente en México, provienen de las razas españolas lacha, churra y merino, traídas en el segundo viaje de Colón en 1493, Posteriormente, a lo largo del periodo colonial que corrió de 1521 a 1821, las oleadas de ovinos españoles que llegaron fueron creando un mosaico genético conocido como borrego criollo que se difundió ampliamente en gran parte de la Nueva España (Martínez-Rojero, 2016). De esta manera, el país se fue poblando, y a principios del siglo XX gran parte de la república contaba con ganado criollo, descendiente de las razas españolas traídas originalmente (Medrano, 2000).

El rebaño nacional se fue incrementando a través de los años, principalmente, en manos de los españoles. En México se practicaba la trashumancia (el acarreo de los animales a través de los terrenos con mejores condiciones de praderas y agua, hasta llegar a las zonas de mercado). En 1579 existían en Querétaro 200 000 ovejas que recorrían de 300 a 400 km en septiembre, para consumir los pastos en las regiones de Chapala, y regresaban en mayo a la ciudad de México. Para 1635, bajaban regularmente a las llanuras de Nuevo León 13 rebaños, con un total de 300 000 ovejas y en 1714, existía un rebaño en Tecámac, con 8 000 cabezas. En el siglo XVI, la clase dirigente de los indígenas (descendientes de los nobles) llegó a tener rebaños con varios cientos a varios miles de cabezas de ovinos, pero nunca superando a los rebaños de los españoles. A finales del siglo XVI, las leyes virreinales los limitaron a tener, cuando mucho, 300 ovejas por rebaño. En la ciudad de México se prefería la carne de carnero y se consumía varias veces más que la de res. En 1557 ya se mataban 120 000 ovinos y para 1604 en 7 poblaciones de la Nueva España había 114 rastros (Negrete, 2020).

La ovinocultura mexicana, ha sido una actividad pecuaria importante a través de su historia, desarrollándose en completa libertad, favorecida por las condiciones

climáticas y amplias praderas naturales pero caracterizados por ser de bajos niveles productivos y rentables que deterioran la competitividad, causando pérdidas de empleo crecimiento sostenido de las importaciones agroalimentarias y déficit de la balanza comercial agropecuaria, debido a deficiencias en el mal manejo de recursos nutricionales, reproductivos y sanitarios del rebaño. Actualmente en México, la ovinocultura se desarrolla en sistemas de producción muy variados condicionados por las variaciones climáticas, disponibilidad de los recursos y nivel socioeconómico de los productores, la ovinocultura social se maneja con mano de obra familiar, pastoreando en terrenos comunales y empleando métodos tradicionales heredados de padres a hijos (Negrete, 2020).

Actualmente, la población ovina nacional es de 8 902 451, la cual se distribuye de la siguiente forma: En la zona centro 55%, en la norte 23%, en la zona sur 16% y en el trópico 6% (SIAP, 2018).

4.2. Situación actual de le producción ovina en México

La ovino cultura es una actividad ganadera la cual constituye una fuente de empleo para cierto grupo de la población, que incluye: pastores, esquiladores, artesanos, trabajadores de matadero, peleteros, restauranteros y comerciantes de productos de ovinos (De Lucas y Arbiza, 2000). A pesar de esta contribución, la participación de los ovinos en el sector pecuario en México sólo representó el 2,7% del valor total de la ganadería (SIAP, 2011), con un inventario para 2018 de 8,902,451 cbz, donde el Estado de México lidera el inventario nacional con 1,450,098 cbz. Seguido del estado de Hidalgo, Veracruz y Oaxaca (Figura 1), que representan la zona centro 55%, en la norte 23%, en la zona sur 16% y en el trópico 6% (SIAP, 2018).

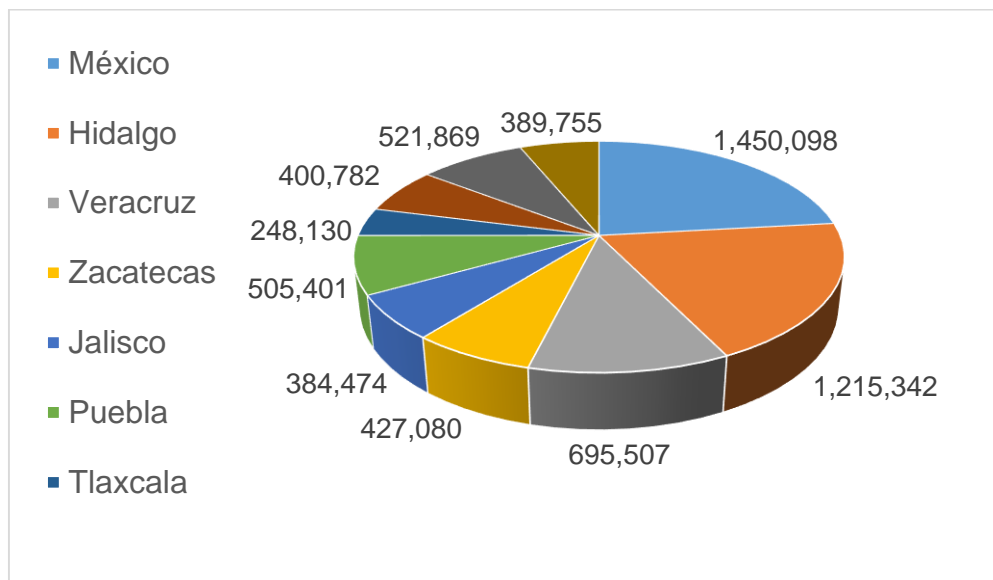


Figura 1. Principales estados con mayor número de cabezas de ovinos (SIAP, 2018)

4.3. Producción de carne de ovino

Desde hace más de 50 años, la demanda anual de carne de ovino en México ha sido superior a la producción, actualmente se producen 62,939.6 ton, en comparación con las más de 90 000 mil toneladas demandadas, es decir solo se produce el 70 % de la carne ovina que se consume en el país, por lo que el déficit se cubre con las importaciones de carne congelada de países como Australia (61%), Nueva Zelanda (23%), Estados Unidos (1%), Chile (4%), y otros países (1%) (SIAP, 2018). La principal forma de consumo de la carne de ovino es en barbacoa (95%), y 85% de ésta se consume en el centro del país (Estado de México, Distrito Federal, Puebla, Hidalgo, Querétaro, Tlaxcala).

En los últimos años ha surgido la demanda de carne ovina en diferentes regiones del país, donde antes no existía, y en las cuales, las formas de consumo son distintas, tales como cordero al pastor, cordero lechal, birria, sustituto de cabrito y en cortes.

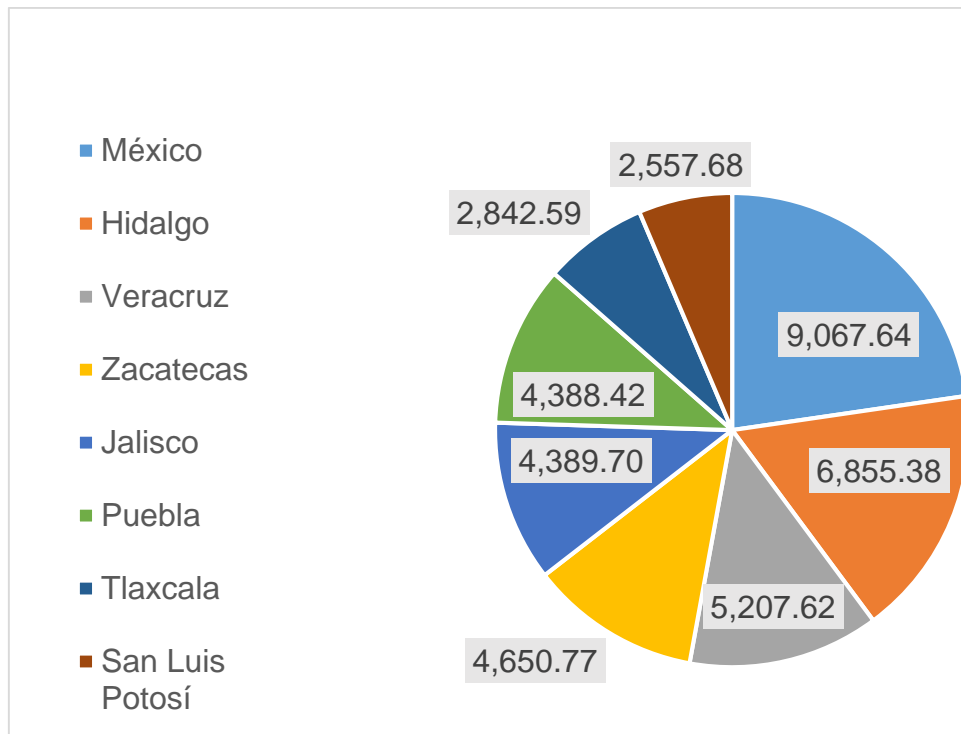


Figura 2. Principales estados productores de carne de ovino.

Para el 2010, se registraron alrededor de 53,000 unidades de producción ovina que se distribuyeron con 53% en el centro, 24% en el sur sureste y 23% en el norte. Las razas que se utilizan varían de acuerdo a cada región, en el centro, la ovinocultura se desarrolla con razas de lana y pelo, mientras que para el sur-sureste se utilizan razas de pelo para la producción de carne y produce lana con razas criollas en Oaxaca y Chiapas y la parte norte se dedica a la producción de carne con razas de pelo (Partida et al., 2013).

4.4. Sistemas de producción ovina

Cuando se disponía de enormes extensiones de tierra, había pocos cercos y poca presión en los agostaderos, la ovinocultura era negocio porque se podían manejar rebaños numerosos a un costo de la tierra reducido, con bajos salarios y con disponibilidad de henos, ensilados y granos para el invierno. La presión del reparto agrario y la necesidad de someter al cultivo, no siempre en forma recomendable, tierras que antes eran pastizales, obligó a confinar a los borregos en superficies cada vez más pequeñas. Anteriormente, no se manejaban criterios como carga animal o coeficientes de agostadero, lo cual llevó a una tendencia del deterioro de las praderas por sobrepastoreo.

En México se producen ovinos en casi todo el territorio nacional, Existen diferentes sistemas de producción de ganado ovino que dependen principalmente de las condiciones climatológicas, disponibilidad de recursos y nivel socioeconómico de los productores (Velázquez et al., 2017).

De acuerdo a Partida et al. (2013) los sistemas de producción de ovinos se manejan bajo tres principales sistemas de producción, de acuerdo con la intensidad de su régimen de producción:

1. Sistema extensivo (pastoreo)
2. Sistema intensivo (estabulación)
3. Sistema semi-intensivo (combinación de las dos modalidades)

Mientras que de acuerdo a su propósito fundamental se dividen en:

1. Comerciales
2. Autoconsumo

Cada uno de ellos tiene condiciones particulares y dependen de la edad, raza o cruza, peso a la venta y la forma de alimentación. Esto ocasiona que la producción de cordero sea irregular y exista diferencia entre corderos de

diferentes procedencias o de los tipos de explotación. (SAGARPA 2017). Sin embargo, los ganaderos tienen su propio sistema de acuerdo con los recursos que cuenta cada uno de ellos. Con el paso del tiempo se han ido reduciendo los agostaderos y praderas donde se alimentaba el ganado de pastizales, la presión del reparto de tierras ha provocado que el ganadero optara por disminuir el cultivo de diferentes especies, esto obligó a que el ganado fuera confinado en superficies pequeñas (Romero, 2012)

Sistema extensivo

Se basa, principalmente en el uso de grandes áreas de pastoreo y el aprovechamiento de los pastos naturales donde muy pocas veces se utilizan praderas cultivadas. La calidad de los pastos nativos es muy pobre en los distintos ambientes, debido al terreno, clima y condiciones topográficas, además varía de acuerdo a su estado fenológico y época del año, presentando la mayor disponibilidad y calidad de forraje durante la época de lluvias, sin embargo, durante la época más seca la calidad y cantidad de los forrajes se ve disminuida considerablemente por lo que es necesario realizar algún tipo de suplementación con granos de segunda calidad, es aquí donde los árboles y arbustos presentes en los agostaderos cobran importancia ya que proveen de nutrientes a los animales durante esta época (Partida et al., 2013). Por lo general en este sistema de producción los animales se encuentran en un solo rebaño que incluye machos y hembras en diferentes edades ya que no se lleva un control reproductivo ni genético, por lo que se presentan partos durante todo el año. El pastoreo se realiza de manera continua y los rebaños pueden variar considerablemente de 100 a 1500 animales.

4.4.1. Sistema intensivo

En México hay pocos y se encuentran principalmente en la zona centro, se caracterizan por tener un alto grado de tecnificación, por lo que ya son

considerados como empresas productivas. En este sistema se utilizan programas productivos considerando las diferentes etapas productivas de los animales, medicina preventiva, economía, administración y mercadeo. Se llevan registros de producción y un control más estricto de la productividad de la empresa. La mayoría de estas empresas se dedican a la producción de animales para venta de pie de cría y en los últimos años han surgido empresas productoras de cordero para abasto.

La alimentación en estos sistemas de producción se basa en el uso de dietas integrales que son proporcionadas a libre acceso o se emplea la combinación de forrajes de buena calidad con alimentos concentrados que se ofrecen dos o tres veces al día buscando tener la conversión alimenticia más equitativa y la máxima eficiencia de transformación. La producción intensiva puede ser realizada en pastoreo tecnificado, en completa estabulación o sistemas mixtos en combinación de estos dos procesos (Partida et al., 2013).

Pastoreo tecnificado: se basa en el consumo de forraje ya que la mayor parte del alimento que come el animal es de las especies empleadas, por lo general se desarrolla en áreas reducidas donde los forrajes están representados por especies introducidas en una asociación de gramíneas con leguminosas, la carga animal es alta por lo que el tiempo de ocupación es corto, por lo que se complementa el esquema de rotación de potreros, en este sistema los animales se mantienen clasificados en grupos de acuerdo a su estado fisiológico (Partida et al., 2013)

Estabulación: en este sistema los animales se mantienen confinados durante toda su vida en corrales adaptados con todo el equipo necesario para su cuidado y confort, como son: pisos elevados, sombra, comederos y bebederos por lo general tiene mano de obra contratada; llevan registros de producción y costos entre otros. Las razas que se utilizan son razas especializadas y sus cruces definidos tienen uso de tecnología y por lo general asistencia técnica profesional. La alimentación se basa principalmente en el uso de dietas altas en granos y aditivos

como lo son enzimas, *B*-agonistas, hormonas y modificadores de la fermentación ruminal. La reproducción puede emplear la inseminación artificial, por lo que este sistema incluye la cría y desarrollo de animales para propósitos reproductivos (pie de cría), producción y finalización de corderos para abasto (Partida et al., 2013). El espacio requerido por cabeza es de 1,20 m² a 3,50 m², según se trate de corderos o animales adultos (Cruz, 2008).

Sistema mixto: es una combinación de los dos anteriores, en los cuales la producción se basa en el pastoreo diurno con pastos nativos o introducidos y una complementación con concentrado al regresar los animales al encierro.

4.4.2. Sistema semi-intensivo

Estos sistemas son conocidos también como sistemas diversificados con pastoreo en superficies agrícolas, áreas forestales y cultivos frutales, usualmente los animales pastorean en poteros o plantaciones en las primeras horas de la mañana y regresan al encierro antes del anochecer, además reciben alimentación complementaria que puede ser basada en esquilmos agrícolas, granos de cereales o alimento balanceado comercial (Partida et al., 2013).

4.5. Uso de árboles forrajeros en la alimentación de ovinos

El uso de árboles para la suplementación de rumiantes, tanto en épocas de escasez como de abundancia de forrajes se ha utilizado tradicional en muchas zonas ganaderas. En la literatura existe información sobre el uso de árboles forrajeros en la producción de ovinos y bovinos; sin embargo, en la zona sur del Estado de México no se tiene información sobre muchas plantas nativas (Clavero, 2013). Las hojas y frutos de árboles nativos representan una alternativa de disponibilidad de azúcares, carbohidratos, minerales y proteínas para el ganado, como estrategia para disminuir la dependencia de concentrados comerciales

dentro de los sistemas de producción de rumiantes en el trópico (Palma y Román, 2003).

El paisaje actual de muchas regiones ganaderas en México dista de estar totalmente desprovisto de árboles. Inmersos en los potreros o rodeando a estos, es posible observar fragmentos de bosques o selvas originales, acahuales, corredores de vegetación a la orilla de ríos o arroyos, cercas vivas, arboles aislados y hasta plantaciones introducidas; sitios que son de pastoreo rutinario u ocasional para los ovino (Torres, 2009).

Otro tipo de vegetación natural utilizada con importancia por los ovinocultores son los matorrales, comunidades denominadas por arbustos espinosos, típicos de zonas áridas y semiáridas. Aquí, la escasez de agua y los suelos pobres y someros son muy restrictivos para la agricultura, por lo que la ganadería extensiva con caprinos y un poco menos con bovinos, equinos y ovinos ocupa grandes superficies (Olivares et al., 2006).

La importancia que tienen algunas de las leguminosas que se encuentran presentes en las regiones semiáridas y áridas pueden ser utilizadas como especies forrajeras en los pastizales ya que son una serie de leguminosas arbóreas y arbustivas que se han estudiado para ser utilizados como recursos alimentarios para los rumiantes (García *et al.*, 2009). En las estaciones de escases de forraje este tipo de plantas son utilizadas para alimentar el ganado como recurso alimenticio con alto valor nutritivo de proteínas, así mismo, contiene energía, vitaminas y minerales que son los requerimientos nutricionales de los animales para que tengan un mejor desarrollo productivo y reproductivo (Ramírez et al., 2011).

Las leguminosas usadas como bancos de forraje poseen extensos sistemas radicales que les permite acceder al agua profunda del suelo, de manera que son una fuente de forraje de calidad durante todo el año (Torres, 2009), sin embargo, el valor alimenticio de árboles y arbustos es muy variable, depende de la especie,

parte de la planta, etapa fenológica y condiciones ambientales (Ventura et al., 2002), en este sentido, las especies arbóreas más importantes en los sistemas forrajeros, son las de crecimiento rápido, múltiples usos y fijadoras de nitrógeno (Wildin, 1998).

Las leguminosas presentan una buena composición química; con un nivel de proteína, en muchas de ellas hasta del 34%, la solubilidad, la digestibilidad y la degradabilidad de la proteína, así como el comportamiento digestivo cuando son bien manejadas, las hacen atractivas como fuente de alimento suplementario para rumiantes, en áreas tropicales (Chongo y Galindo, 1995).

Las nuevas fuentes de alimentación para animales ha llevado a la búsqueda de diferentes alternativas de alimentación que no compitan con los alimentos básicos para el ser humano; en el transcurso de los años se han llevado a cabo diferentes estudios que analizan el comportamiento nutricional y productivo de árboles, arbustos y frutos de leguminosas como un suplemento de alimentación para los animales fundamentalmente los rumiantes y de esta manera disminuir los costos de producción a un nivel significativo para el productor; utilizando los recursos naturales que se tienen al alcance de las manos dependiendo las zonas geográficas donde se encuentra la unidad de producción (Galindo *et al.*, 2005).

Según Galindo *et al.* (2005), las diferentes especies de leguminosas poseen características que son valoradas para la nutrición de los ovinos. Una de ellas es su excepcional calidad alimenticia, que puede desempeñar un papel clave en el mejoramiento del valor nutritivo del alimento, tienen la capacidad de incrementar en los alimentos la relación de proteína/energía ya que contiene un alto porcentaje de proteína y un porcentaje de compuestos secundarios que ayudan a la degradación y a la tasa de pasaje de nutrientes a través del tracto gastrointestinal; otra ventaja que tienen las leguminosas es la fijación de nitrógeno atmosférico en el suelo lo cual aumenta la incrementación de nutrientes en el mismo para la

producción de gramíneas que se encuentran asociadas en el entorno con algunas especies de leguminosas.

Las diferentes especies de leguminosas arbustivas se caracterizan por la presencia de taninos en las hojas vainas y en las semillas. Estos pueden afectar en la digestibilidad, el consumo voluntario de materia seca y en ocasiones puede presentarse toxicidad en los rumiantes por el alto contenido de taninos; sin embargo, la concentración moderada de taninos condensados puede ser aprovechada como protector de la proteína a nivel ruminal y de esta manera se tiene un mejor aprovechamiento de la proteína y tiende a aumentar el rendimiento del animal (García. et al., 2009).

Según Ramos *et al.* (1998), las leguminosas tienden a desarrollar una característica importante la cual es la defensa de la planta y es producto del metabolismo secundario del cual sintetiza compuestos conocidos como compuestos secundarios. La planta distribuye los compuestos secundarios a sus diferentes tejidos vegetales estos van disminuyendo de acuerdo a el desarrollo fenológico de la planta. Todas las partes en crecimiento anual como son hojas jóvenes, yemas en crecimiento, órganos de dispersión y órganos reproductores tienden a tener una mayor concentración de compuestos secundarios; algunos de los compuestos secundarios son utilizados como agentes alelopáticos para repeler virus, hongos y bacterias

4.6. Fitoquímicos

El termino fitoquímicos o fitonutrientes podría definirse como cualquier alimento funcional en forma natural o procesada que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen la salud y capacidad física tanto en humanos como animales (Chasquibol et al., 2003). Esos componentes adicionales son conocidos comúnmente como compuestos secundarios, los cuales engloba sustancias químicamente muy diversas y son una

contraposición a los productos del metabolismo primario que aparece en el citoplasma de todas las células vegetales (Ramos *et al.*, 1988). No todos los metabolitos secundarios se presentan en todos los grupos de plantas, ya que se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando su producción restringida a un género de plantas, a una familia o incluso a unas especies (Avalos y Pérez, 2009).

Los metabolitos secundarios tienen funciones específicas, sirven como atrayentes o repelentes de animales, como pigmentos de flores y frutos, en otros casos son sintetizados como respuesta a los ataques de los herbívoros (Ramos *et al.*, 1988), actuando como repelentes o proporcionando a la planta sabores amargos, haciéndolas indigestas o venenosas, también intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas frente a patógenos actuando como pesticidas naturales (Avalos y Pérez, 2009).

Existe una gran diversidad bioquímica de metabolitos secundarios, sin embargo, el tipo de compuesto que se sintetiza en cada planta está definido por la disponibilidad de recurso. La disposición de este tipo de compuestos en los diferentes tejidos vegetales depende de su importancia para la planta, así como de su redistribución según avanza el desarrollo fenológico, por lo tanto, las yemas en crecimiento, hojas jóvenes, órganos reproductores y en general las partes de crecimiento anual muestran mayor contenido de compuestos secundarios que los tejidos viejos (Ramos *et al.*, 1988).

4.6.1. Síntesis

La síntesis de los fitoquímicos es llevada a cabo por un conjunto de reacciones químicas en las plantas, las cuales destinan una cantidad de carbono asimilado y de energía a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no tienen una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, de asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos

(Avalos y Pérez, 2009). Los precursores de la biosíntesis de los compuestos secundarios se derivan de las rutas del metabolismo primario, tales como la glucólisis, el ciclo de Krebs o la vía del shikimato.

4.6.2. Tipos de fitoquímicos

Estos compuestos se agrupan en cuatro clases principales: **Terpenos** (hormonas, pigmentos o aceites esenciales), **Compuestos fenólicos** (cumarinas, flavonoides, lignina y taninos) **Glucósidos** (saponinas, glucósidos cardíacos, glucósidos cianogénicos y glucosinolatos) y **Alcaloides** (Peñarrieta *et al.*, 2014). Algunos de estos compuestos se han llamado compuestos bioactivos, ya que tienen la capacidad de provocar efectos farmacológicos o nutricionales en humanos y animales.

Los fitoquímicos más estudiados en la alimentación de pequeños rumiantes son los compuestos fenólicos los cuales se ha demostrado pueden tener efecto sobre la digestibilidad y absorción de nutrientes.

4.6.3. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se componen de una molécula básica denominada fenol, compuesta de un anillo aromático (fenil), unido a un grupo hidroxilo (OH) (Peñarrieta *et al.*, 2014), dentro de este grupo se encuentran una gran variedad de compuestos con características y propiedades específicas para la nutrición animal. Estos compuestos se dividen en diferentes grupos dentro de los cuales los taninos condensados son los de mayor importancia en la nutrición de rumiantes.

4.6.4. Fenoles simples

Son compuestos que tienen dos o tres grupos hidroxilos en el anillo aromático, estos compuestos tienen actividad antioxidante además de una actividad biológica importante como antibióticos, antiparasitarios y citotóxicos (Vélez-Terranova *et al.*, 2014).

4.6.5. Fenoles ácidos

Se dividen en dos grupos, los ácidos hidroxibenzoicos compuestos por un anillo aromático con un grupo carboxílico y uno o más grupos hidroxilos, con posible efecto protector ante las lesiones de hígado, y los ácidos hidroxicinámicos, se caracteriza por la presencia del grupo $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$, en reemplazo del grupo COOH presente en los ácidos hidroxibenzoicos, aparte de su capacidad antioxidante, estos compuestos han mostrado capacidad antígenotóxicos y anti proliferativa en células (Vélez-Terranova *et al.*, 2014).

Cumarinas: estos compuestos contienen un anillo aromático unido a un heterociclo oxígeno, se consideran compuestos fenólicos en particular cuando un grupo hidroxilo está unido a un esqueleto de estructura cumarina. Se ha encontrado actividad antioxidante, así como propiedades antibacterianas (Vélez-Terranova *et al.*, 2014).

Flavonoides: son compuestos polifenólicos que comprenden 15 átomos de carbono, con dos anillos aromáticos conectados por un puente de tres carbonos. La mayoría de estos compuestos se encuentran normalmente conjugados con azúcares normalmente en forma de glucósidos aunque también es común encontrar grupos hidroxilo en la posición 4, 5 y 7. Dentro de la importancia de estos compuestos se encuentra la reducción de metano, pero además podría estimular el metabolismo microbial (Vélez-Terranova *et al.*, 2014).

Taninos: son sustancias no bien definidas químicamente, pertenecen al grupo de los compuestos fenólicos y se han agrupado debido a que presentan algunas características comunes, su peso molecular oscila entre 500 y 2000 daltons (Piñeiro-Vázquez *et al.*, 2015), en este grupo se encuentran ácidos fenólicos de 7 a 9 átomos de carbono que incluye a los ácidos gálico y p-cumárico, los flavanos de 15 átomos de carbono y las ligninas las cuales presentan un alto grado de polimerización (Ramos *et al.*, 1998). Convencionalmente estos compuestos se dividen en dos grandes grupos taninos hidrolizables y taninos condensados (Hervas, 2001).

Taninos hidrolizables: tal como su nombre lo indica son hidrolizables químicamente (Hervas, 2001), en presencia de ácidos, bases o encimas (Olivas-Aguirre *et al.*, 2015). Están constituidos por un núcleo compuesto por un glúcido, cuyos grupos hidroxilos pueden esterificarse con ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido elágico, ácido fecarboxílico y hexahidroxidifénico) (Olivas-Aguirre *et al.*, 2015), cuando estos compuestos son consumidos por los animales, estos son degradados por los microorganismos ruminales (Piñeiro-Vázquez *et al.*, 2015) y a diferencia de los TC, los productos de su degradación pueden absorberse en el intestino delgado y ser potencialmente toxico para los rumiantes especialmente cuando se suministran en grandes cantidades o cuando no se tiene un periodo previo de adaptación (Waghorn, 2008).

Taninos condensados: los Taninos Condensados (TC), también llamados proantocianidinas, son términos utilizados para aquellos productos naturales que son convertidos en antocianidinas después de ser calentados con ácido, son productos polimerizados de 3-flavonoles solos o una mezcla con 3,4-flavanodioles, estos polímeros se denominan también flavolanos, por una denominación análoga a la de los polisacáridos arabano o dextrano (Martínez-Moya, 2001), forman parte

de los compuestos secundarios de las plantas, y están formados por polímeros no ramificados de hidroxiflavonoles unidos mediante enlaces entre carbonos, carecen de núcleo glúcido (Hervás, 2001) y tienen la capacidad de unirse a proteínas, iones metálicos y polisacáridos (Tesdechi *et al.*, 2011b), se encuentran distribuidos en todo el reino vegetal (Min *et al.*, 2003), principalmente en leguminosas forrajeras, árboles y arbustos (Pawelek *et al.*, 2008).

Síntesis: los TC juegan un papel importante en la ecología de las plantas, principalmente en las leguminosas (Min *et al.*, 2003), ya que constituyen un medio de defensa contra los depredadores, al reducir la digestión de los nutrientes después de la ingestión por los herbívoros (Pawelek *et al.*, 2008). La síntesis de los TC se origina en el citoplasma de la célula, a partir de la fenilalanina y precursores de etilo que forma unidades de catequina en la vacuola de la célula (Waghorn, 2008), sin embargo la concentración y estructura de los TC está relacionado a factores tales como la región, temporada de crecimiento, desarrollo de tejido tisular, exposición a la defoliación y condiciones medioambientales (Rakhmani *et al.*, 2005; Ntuthuko *et al.*, 2015) ya que algunas especies de leguminosas forrajeras aumentan o disminuyen la cantidad de TC cuando son atacados por herbívoros, por lo tanto, se considera que las plantas desarrollaron este tipo de defensa para protegerse del ataque de organismos como insectos y hongos (Muir, 2011), en este sentido, plantas con hojas de vida larga generan mayores concentraciones de TC que plantas con hojas de vida corta, incluso hojas de vida corta sometidas a defoliación, llegan a generar mayor cantidad de TC que leguminosas arbóreas que no son sometidas a ataque de herbívoros (Muir, 2011), en casos más específicos plantas de la misma especie que se encuentran dentro del mismo ecosistema pueden variar en la concentración de TC, dependiendo de su estado de madurez (Muir, 2011).

Composición y estructura: los TC son compuestos complejos de oligómeros y polímeros de unidades flavonoides (flavan -3-ols y/o flavan 3,4-diols) unidos mediante enlaces C-4 y C8 (Min *et al.*, 2003; Rakhmani *et al.*, 2005; Huang *et al.*,

2010), (Figura 2). Los 3-flavonoles son comúnmente denominados catequinas, caracterizados por poseer dos carbonos asimétricos ligados mediante enlaces de carbono C-3 y C-4 dando lugar a cuatro isómeros (C-4) (Martínez-Moya, 2001), mientras que los 3,4-flavanodiolos pertenecen a los compuestos denominados leucoantocianinas, cada una de sus moléculas posee tres átomos de carbono asimétricos (C-2, C-3, C-4) dando lugar a ocho isómeros (enlaces C-8) (Martínez-Moya, 2001), contienen grupos fenólicos con peso molecular entre 500 y 2000 Dalton (Da) (Huang *et al.*, 2010), donde el número de grupos funcionales en una molécula de TC, determina la formación de complejos con proteínas, formación de quelatos con iones metálicos y otras capacidades reductoras (Pagan *et al.*, 2010), por tanto, las diferentes combinaciones de unidades monoméricas y enlaces C-C pueden resultar en miles de formas en las estructuras de los TC, muchas de las cuales pueden afectar la digestión del alimento en el ganado (Rakhmani *et al.*, 2005), sin embargo, no se debe generalizar sobre sus efectos (Cabiddu *et al.*, 2009) ya que tienen tanto efectos benéficos como adversos principalmente en función de su concentración (Huang *et al.*, 2010).

4.7. Efecto de los taninos sobre la degradación ruminal y absorción de nutrientes.

Muchos de los alimentos consumidos por los rumiantes contienen taninos, que intervienen con los procesos digestivos (Vasta *et al.*, 2009) por los complejos que forman durante y después de la masticación (Min *et al.*, 2003) con proteínas, carbohidratos y en menor medida con minerales (Pagan *et al.*, 2009) reduciendo la digestibilidad de los nutrientes a nivel ruminal (Cortes *et al.*, 2009). Al disminuir la velocidad de digestión del alimento, podrían ayudar a sincronizar la liberación ruminal de los nutrientes que a su vez podría ayudar a aumentar el metabolismo microbiano (Makkar *et al.*, 2005; Pawelek *et al.*, 2008), tienen además la capacidad de interactuar con la proteína del alimento, enzimas, microbios y

mucosas tanto orales como del tracto digestivo (Silanikove *et al.*, 2006), disminuyen la fermentación de los carbohidratos, la producción de amoníaco, éste último debido a la disminución directa de la proteólisis (Muir, 2011), de igual manera tienen la capacidad de modificar la relación de AGV's, al intervenir con los procesos de biohidrogenación ruminal (Vasta *et al.*, 2009). A pesar de que la mayoría de los estudios realizados se centran en los complejos que forman los TC con proteínas y la capacidad antihelmíntica, se ha encontrado que la adición de TC a las dietas para corderos cambia el nivel de excreción de N tanto en la orina como en las heces (Pagan *et al.*, 2010), por estas razones los TC, son uno de los compuestos secundarios de las plantas bajo estudio para su uso dentro de los ecosistemas ruminales como aditivo para alimentos (Tedeschi *et al.*, 2014), sin embargo los efectos nutricionales y anti nutricionales dependen de la concentración en las dietas, estructura y naturaleza (Jin *et al.*, 2012; Dentinho *et al.*, 2014).

4.7.1. Digestibilidad de la Materia Orgánica (MO)

Los TC tienen la capacidad de reducir la fermentación y la digestibilidad de la materia orgánica en el rumen (Piñeiro-Vázquez *et al.*, 2015) debido a sus efectos bacteriostáticos y bactericidas sobre los microbios del rumen, retardan la velocidad de la digestión del alimento que podría ayudar a sincronizar la liberación ruminal de los nutrientes, sin embargo, también podría ser ocasionado por la velocidad de paso del alimento en el intestino delgado (Muir, 2011). Los resultados obtenidos en trabajos reportados, son muy variables, por ejemplo Wischer *et al.* (2013), Reportaron efectos significativos sobre la degradabilidad *in vitro*, al incluir extractos de *Castanea sativa*, *Acacia negra*, *Terminalia chebula*, plantas ricas en taninos, encontrando reducciones significativas sobre la degradación de la MS y MO, de 48 % y 51.2 % respectivamente para el tratamiento control a un rango de 43.6 a 44.7 % para MS y de 46.2 a 47.7 para MO, para los tratamientos que fueron suplementados con taninos.

4.7.2. Efecto de los TC sobre la digestibilidad de la PC

La utilización de la proteína de los alimentos para rumiantes puede ser optimizado si una mayor proporción de la proteína sobrevive a la degradación ruminal y pasa al tracto digestivo posterior donde pueda ser absorbida, un método podría ser el uso de TC (Theodoridou *et al.*, 2010) ya que mejoran la utilización de la proteína al convertirla en proteína de sobrepaso e incrementar el pool de proteína metabolizable en el intestino delgado (Makkar *et al.*, 2007). La capacidad de los TC para formar complejos con proteínas está relacionada con su composición monomérica (Cortes *et al.*, 2009), ya que presentan un gran número de grupos fenólicos que proveen numerosos puntos para la formación de enlaces con grupos carbonilos de los péptidos (Hervás, 2001) reduciendo su degradación en el rumen (Dentinho *et al.*, 2014; Orlandi *et al.*, 2015), ya sea por la degradación o solubilización verdadera o por la capacidad de reducir la habilidad de los microorganismos para adherirse a las partículas del alimento, la inhibición del crecimiento microbial y/o la actividad enzimática (Dentinho *et al.*, 2014). Los complejos más estables entre los TC y las proteínas se forman en un pH cercano a la neutralidad, de entre 6.0 y 7.0 (Cortes *et al.*, 2009; Pawelek *et al.*, 2008), mientras que en un pH ácido < 3.5 los compuestos tanino-proteínas son disueltos (Ramírez-Restrepo *et al.*, 2005), resultando en un aumento en la cantidad de aminoácidos que puede ser absorbida en el intestino delgado (Ramírez Restrepo *et al.*, 2005; Pawelek *et al.*, 2008), sin embargo algunos estudios sugieren que además del ambiente ácido se requiere de la presencia de otros compuestos como enzimas pancreáticas, minerales o su combinación para liberar la proteína de los complejos formados con los TC (Pagan *et al.*, 2010).

Como ya se ha mencionado, el efecto de los TC dependen principalmente de la concentración en la dieta, es decir, proporciones bajas resultan ineficaces (Azuhwi *et al.*, 2012), mientras que niveles de 20 a 40 g/kg de MS reducen la degradación de la proteína cruda en el rumen y aumenta la absorción de

aminoácidos en el intestino delgado (Jin *et al.*, 2012; Pawelek *et al.*, 2008), en contraste altos niveles (50 a 100 g/kg MS reduce el consumo voluntario como consecuencia de los problemas de palatabilidad y la digestibilidad aparente (Jin *et al.*, 2012; Azuhwi *et al.*, 2012). Resultados obtenidos en pruebas *in vitro* Wischer *et al.* (2013), reportan reducciones de la degradabilidad de la PC de ensilado de pasto, al ser suplementados con 1.5 g de extractos ricos en taninos (*Vitis vinífera*, *Terminalia chebula*, *Rhus coriaria*, *Quercus valonea*) por 15 g de ensilado, en un rango de 74.5 % a 76.5 %, comparado con un 80.8 % del control.

4.7.3. Degradación de carbohidratos

Los TC no solo reducen la degradación ruminal de la proteína sino también de los carbohidratos (Orlandi *et al.*, 2015; Jayanegara *et al.*, 2015) probablemente por la vía de la reducción de la actividad bacteriana degradadora de polisacáridos o por medio de la reducción de la susceptibilidad de los sustratos a la colonización y degradación por los microorganismos ruminales (Barahona *et al.*, 2006), desde el punto de vista metabólico se ha observado que los TC reducen la degradación de los carbohidratos estructurales al disminuir la cantidad de bacterias celulíticas, ya que en concentraciones superiores a 7% de MS tienen efecto defaunador (Olmedo *et al.*, 2015), por lo tanto, cualquier reducción de la degradación de la fibra limitará el consumo voluntario y la absorción de la energía (Waghorn, 2008).

4.7.4. Degradación y absorción de lípidos

La hidrólisis de los galactolípidos, los fosfolípidos, sulfolípidos y los triglicéridos, es el primer paso del metabolismo de los lípidos en el rumen, permitiendo la liberación de ácidos grasos saturados, mono insaturados y poliinsaturados, el proceso de digestión de los lípidos y la síntesis de ácidos grasos, está íntimamente relacionada con el proceso de biohidrogenación (BH) a nivel ruminal,

proceso responsable de la presencia en mayor cantidad de ácidos grasos saturados que insaturados en carne y leche de rumiantes (Castillo et al., 2013). Conocer el proceso de BH, ha permitido desarrollar estrategias que mejoren la relación de AGS y AGIS, donde una las más importantes ha sido el diseño de estrategias nutricionales.

En algunos trabajos se ha reportado que la presencia de TC en las dietas para rumiantes podría modificar el proceso de BH (Toral et al., 2011), lo que a su vez generaría cambios en la síntesis de ácidos grasos bioactivos en carne y leche (Castillo et al., 2013). Sin embargo, los resultados que se han obtenido han sido contradictorios, mientras que en pruebas *in vitro* se han encontrado efectos positivos sobre la producción de ácido vesénico, en estudios *in vivo* no se han encontrado efectos (Toral et al., 2011).

El ácido linoléico, es uno de los ácidos grasos de mayor importancia para la salud humana, sin embargo, en el rumen es transformado en diferentes productos intermediarios como el ácido ruménico, a través de la biohidrogenación por los microorganismos ruminales. Los TC también pueden afectar el metabolismo de los lípidos mediante la promoción de la excreción de ácidos biliares y disminuyendo la actividad de la lipasa digestiva (Mahgoub et al., 2008).

4.7.5. Producción y absorción de AGV's

Los TC, tienen la capacidad de modificar la concentración de ácidos grasos de cadena corta en el rumen (Jayanegara et al., 2015), debido a la capacidad que tienen para disminuir la degradabilidad de la MO (Piñeiro-Vázquez et al., 2015) o por el potencial que poseen para manipular las poblaciones microbianas que intervienen en la biohidrogenación ruminal (Ishlak et al., 2015), disminuyendo o aumentando la producción de AG de cadena corta (Castro-Montoya et al., 2011), en particular la relación acetato:propionato (Piñeiro-Vázquez et al., 2015) . De

acuerdo con Ishlak *et al.* (2015), la concentración de propionato aumentó al adicionar cantidades moderadas de TC (13.3 g/kg de MS) a la dieta, Rira *et al.* (2015), obtuvieron un aumento en la concentración de propionato, al suplementar con *Acacia cyanophylla*, por su parte Wischer *et al.* (2013), encontraron variación sobre la producción de acetato, reportando una reducción de 19 % cuando se suplemento con extracto de castaño *Castanea sativa*, mientras que cuando se suplemento con extracto de uva (*Vitis vinífera*) y myrabolan (*Terminalia chebula*), la producción de acetato aumento en 22 % y 13 %, respectivamente, en relación al control, también reportaron una reducción sobre la producción de N amoniacal, en todos los tratamientos obteniendo los mejores resultados con el extracto de castaño, sin embargo el efecto también afecto directamente la degradación de la fracción química del alimento. En otro estudio se reportó una alteración sobre la proporción de acetato-propionato, a medida que se aumentó la dosis de TC, encontrando una proporción directa dependiendo de la fuente de TC en relación y la dosis (Jayanegara *et al.* 2015).

Este efecto se encuentra fuertemente relacionado con la disminución de la producción de CH₄. Sin embargo, al igual que con las proteínas, depende de la fuente de donde provengan los TC (Piñeiro-Vázquez *et al.*, 2015). El desarrollo de estrategias de alimentación para minimizar la emisión de metano, es deseable para conservar el medio ambiente pero también para aumentar la eficiencia de utilización de la energía (Jayanegara *et al.*, 2015).

4.7.6. Efecto sobre la absorción de minerales.

Los TC pueden formar compuestos al mezclarse con minerales principalmente de carga positiva (Muir, 2011), ya que tienen efectos quelatantes, pudiendo reducir la disponibilidad de determinados iones metálicos necesarios para el metabolismo de los microorganismos ruminales (Hervas, 2001). Algunos autores sugieren que el rumen es el sitio principal para la digestión de los minerales tanto de las

gramíneas como de las leguminosas, sin embargo, Pagan *et al.* (2010), Sugirieron que la presencia de TC, en particular el tipo y peso molecular podría afectar el sitio y extensión de desaparición de fosforo (P), por otro lado, aunque el efecto ha sido más estudiado en no rumiantes, en rumiantes, minerales tales como el hierro y el cobre se precipitaran al unirse a TC sobretodo en ambientes ácidos como los que se encuentran en el ID disminuyendo su absorción (Muir, 2011). En el caso del fosforo se ha observado que en forrajes que contienen TC la disponibilidad es menor que en forrajes que no contienen TC, mientras que en algunos estudios se ha observado que existe mayor disponibilidad de P en el intestino delgado que en el rumen cuando se encuentran involucrados TC (Muir, 2011).

Al igual que con los complejos TC- proteínas, los efectos de los TC en la digestión del P y otros minerales depende de las propiedades de las moléculas del TC y de las moléculas que contienen estos minerales (Pagan *et al.*, 2010).

4.7.7. Efecto de los TC sobre la microbiota ruminal

Los microorganismos ruminales son esenciales para la degradación de los carbohidratos estructurales y la síntesis de proteína de alta calidad (Cardoso *et al.*, 2004), sin embargo, la fermentación ruminal puede resultar en considerables pérdidas de energía y proteína, incrementando la producción de metano y N amoniacal (Cardoso *et al.*, 2004). En este sentido los TC pueden interferir en los procesos digestivos en dos formas principalmente, mediante la inhibición de la actividad de los microorganismos ruminales y/o por medio de la reducción de sus poblaciones (Buccioni *et al.*, 2011; Jayanegara *et al.*, 2015), se ha demostrado que los TC pueden inducir cambios en la fracción microbiana del rumen, incluso cabe la posibilidad de que la adición en los alimentos provoque cambios en el contenido de ácidos nucleicos de los microorganismos (Castro-Montoya *et al.*, 2011), por lo que se considera que los TC intervienen mediante tres mecanismos de acción, el primero, a través de la inhibición de la actividad enzimática, el segundo por la falta

de sustrato al formar complejos con proteínas y carbohidratos, en tercer lugar por la acción directa sobre la membrana de la pared celular y la falta de iones metálicos (Piñeiro-Vázquez *et al.*, 2015). La magnitud de la reducción de las poblaciones microbianas se eleva cuando se incrementan los niveles de TC en la dieta (Jayanegara *et al.*, 2015), ya que algunos compuestos fenólicos pueden ser tóxicos para muchos de los microbios del rumen especialmente protozoos ciliados, microorganismos degradadores de fibra y metanogenos (Rira *et al.*, 2015), sin embargo, es posible que los microorganismos tengan la capacidad de adaptarse a la presencia de TC por lo que su efecto podría inhibirse, durando periodos cortos de tiempo (Piñeiro-Vázquez *et al.*, 2015).

Adicionalmente los complejos que se forman entre los TC y los nutrientes contenidos en los alimentos podría dar lugar a una mayor eficiencia microbiana, además podría fomentar el crecimiento de algunos de éstos, también es posible que sean capaces de modificar la composición química del propio microbio, induciendo de esta manera cambios en toda la fracción microbiana (Castro-Montoya *et al.*, 2011). Sin embargo, Wischer *et al.* (2013), no encontraron diferencias sobre la síntesis de proteína microbiana en una prueba *in vitro* al suplementar con 3.5 g de extractos ricos en taninos de diferentes fuentes, por 15 g de ensilado, lo que indica que las dosis no afectaron la sobrevivencia de los microorganismos ruminales. Aun cuando hubo diferencias sobre la degradabilidad de la fracción química del sustrato.

4.7.8. Bacterias

Los TC tienen la capacidad de reducir las poblaciones bacterianas fibrolíticas tales como *Fibrobacter succinogenes* y *Ruminococcus flavefaciens* (Jayanegara *et al.*, 2015), bacterias proteolíticas como *Clostridium protoclasticum* y *Butyrivibrio fibrisolvens*, lo que provoca una disminución en la degradación de la fibra y proteína en el rumen aunque con menor producción de amoníaco ruminal (Muir,

2011), también tienen fuertes efectos inhibitorios sobre las bacterias productoras de acetatos como *Ruminococcus albus* y *Butyrivibrio fibrisolvens* (Castro-Montoya *et al.*, 2011). Las adiciones de algunos tipos de TC en la dieta inhiben la adhesión y la actividad de las endoglucanasas extracelulares de *F. succinogenes*, sin embargo, este tipo de bacteria es capaz de compensar la inhibición de las endoglucanasas extracelulares aumentando la actividad de las enzimas ligadas a la membrana, lo que podría ser entendido como un mecanismo de defensa ante la presencia de TC (Hervas, 2001).

4.7.9. Hongos

Los hongos anaeróbicos desempeñan un papel importante, como colonizadores primarios de la biomasa vegetal a nivel ruminal, poseen unas de las enzimas fibrolíticas más potentes, pueden penetrar y colonizar paredes de células recalcitrantes que son resistentes al ataque bacteriano (Barahona *et al.*, 2006). Los compuestos fenólicos pueden influenciar la actividad de los hongos ruminales, en algunos trabajos se ha reportado que la presencia de TC, reduce la actividad fibrolítica, Barahona *et al.* (2006), Encontraron que la presencia de 40 mg ml⁻¹ de TC, de diferentes leguminosas tropicales tienen la habilidad de inhibir la actividad de las enzimas de *N. hurleyensis* hasta en un 50 %, sin embargo los hongos capaces de degradar la fibra son menos susceptible a la presencia de TC que las bacterias celulolíticas, tal es el caso de *Neocallimastix patriciarum* es capaz de tolerar concentraciones de hasta 100mg de TC / ml (Hervas, 2001).

4.7.10. Protozoarios

Los protozoarios son importantes productores de H₂, por lo tanto, la disminución de su número disminuye la producción de metano (CH₄) (Rira *et al.*, 2015), los efectos de los TC sobre los protozoarios son variables, a pesar de esto, estudios sugieren que hay una evidente disminución de protozoos en presencia de TC

(Jayanegara *et al.*, 2015), sin embargo, el efecto puede depender del tipo de planta y por tanto de la naturaleza de los TC (Rira *et al.*, 2015).

4.7.11. Efecto sobre la producción animal

Los efectos de los TC en los animales son multifactoriales (Silanikove *et al.*, 2006), puede afectar negativa o positivamente a los parámetros productivos y reproductivos dependiendo del tipo y concentración (Cortes *et al.*, 2009), es decir, concentraciones > a 55 g/kg de MS afecta negativamente la digestibilidad del alimento, por el contrario, concentraciones < a 55 g/kg de MS puede tener efectos benéficos en los rumiantes (Pawelek *et al.*, 2008). Se ha mencionado ya, que los TC tienen la capacidad de formar complejos con otras moléculas como las proteínas, evitando su degradación en el rumen, esta proteína que escapa a la degradación ruminal puede mejorar la deposición de proteína en carne o leche, por lo tanto, reducir las pérdidas de N que escapa al medioambiente (Pagan *et al.*, 2010), en ovejas por ejemplo, se ha obtenido mejoras sobre la ganancia de peso, producción de lana y eficiencia reproductiva, además de la reducción del impacto de los parásitos gastrointestinales (Waghorn, 2008), incluso en concentraciones bajas son capaces de estimular el consumo de forraje (Muir, 2011).

Por el contrario, altas concentraciones puede afectar el comportamiento productivo de los animales (Cortes *et al.*, 2009), disminuyendo el consumo voluntario principalmente (Silanikove *et al.*, 2006; Cortes *et al.*, 2009), ya que afecta negativamente a la palatabilidad (Pawelek *et al.*, 2008) debido a la sensación de astringencia que se genera al reaccionar con las proteínas de la saliva (Goncalves *et al.*, 2011), esta astringencia varía dependiendo del tipo, tamaño y peso molecular del polímero de la proantocianidina así como de la proteína con que se une (Muir, 2011), para contrarrestar este efecto, algunos animales como las cabras, secretan prolina en la saliva que es muy reactiva al unirse con TC, lo que le permite consumir forrajes con cantidades moderadas de TC, sin embargo, esto

puede afectar negativamente la unión TC:proteínas en el ambiente ruminal (Muir, 2011).

En ovejas se han obtenido efectos negativos cuando son alimentadas con forrajes que contienen altas concentraciones de TC, los cuales pueden reducir la actividad enzimática de un 50 a 70 %, además de que pueden causar daños en el omaso y abomaso, reduciendo la producción de pepsina, pueden también provocar cambios en el tamaño de las vellosidades digestivas reduciendo la absorción de los nutrientes (Waghorn, 2008) algunos tipos de taninos llegan a causar incluso lesiones en la mucosa del intestino (Cabiddu *et al.*, 2009). Numerosos estudios han demostrado que existe relación entre la concentración de TC y la selectividad de los alimentos, esta variación induce alteraciones en los patrones de comportamiento de navegación de los herbívoros (Ntuthuko *et al.*, 2015).

La variabilidad del efecto de los TC sobre la nutrición y producción animal podría estar relacionada con varios factores tales como la composición de la dieta, el periodo de adaptación, el momento en que se recogieron los forrajes, el tipo y concentración de TC (Toral *et al.*, 2011; Ishlak *et al.*, 2015), y el estado fisiológico de los animales que afecta directamente sus necesidades nutricionales (Waghorn, 2008).

4.7.12. Efecto de los TC sobre el medio ambiente

Los sistemas de producción pecuaria, contribuyen con las emisiones de gases de efecto invernadero, como el metano (CH₄) derivado de la fermentación entérica durante el metabolismo de los alimentos (Grainger *et al.*, 2009), un potente gas de efecto invernadero, aproximadamente 15% de las emisiones globales de éste es producido por los animales domésticos (Beauchemin *et al.*, 2007). En los últimos años han surgido diferentes estudios que han reportado que al alimentar a los rumiantes con forrajes que contienen taninos condensados se puede reducir las

emisiones de metano entérico (Beauchemin *et al.*, 2007; Grainger *et al.*, 2009). Se han propuesto diferentes mecanismos por los que se puede reducir la producción de metano entérico al alimentar a los rumiantes con plantas que contienen TC, el primero por medio de la reducción de la fermentación ruminal disminuyendo la digestibilidad de la fibra, lo que a la vez permite disminuir la liberación de H₂ (Jayanegara *et al.*, 2012), sin embargo este mecanismo no es de mucho interés ya que resulta en una menor eficiencia en la utilización de los alimentos (Vélez – Terranova *et al.*, 2014), el segundo mecanismo, por medio de la inhibición del crecimiento de microorganismos metanógenos (Jayanegara *et al.*, 2012) mejorando las reacciones metabólicas, por ejemplo, encaminar la fermentación hacia una mayor formación de propionato Wischer *et al.*, 2013), reduciendo la producción de H₂ para la formación de CH₄ (Vélez –Terranova *et al.*, 2014). Carulla, (2005), reporto reducciones de la producción de CH₄, de aproximadamente 12% cuando alimento a ovejas con concentraciones de 2.5 % MS de extractos de *Acacia mearsi*, mientras que Rira *et al.* (2015), encontraron reducciones de 37.5 % y 56.25 % de CH₄ al suplementar con 60 y 30 % de *Acacia cyanophylla*, (Grainger *et al.*, 2009).

4.8. Acacia cochliacantha Willd. (Cubata)



Cuadro 1. Datos taxonómicos de *Acacia cochliacantha* (Willd)

| | |
|-------------------|-----------------------------|
| Reino | Plantae |
| Phylum o división | Tracheophyta |
| Clase | Magnoliopsida |
| Orden | Fabales |
| Familia | Leguminosae |
| Género | Acacia |
| Especie | <i>Acacia cochliacantha</i> |

Descripción

El árbol de *Acacia cochliacantha* es comúnmente conocida como cubata, cubata negro, cubata prieta; así mismo, en el istmo de Tehuantepec es conocida como cucharita, cuchara en Puebla, palo de cucharita en Oaxaca, o huizache tepamo en Michoacán y Guerrero (Sibaja-Hernández, 2015).

Es un arbusto caducifolio de la familia de las leguminosas, alcanza hasta 8 m de alto. Sus ramas se presentan frecuentemente desde la base, están armadas con espinas estipulares cóncavas en forma de cuchara hasta de 3.5 cm de largo, blanquecinas al madurar y rojizas cuando jóvenes. Las hojas tienen una glándula en el primer par de pinas. Tiene raquis de hasta 13.8 cm con 9 a 28 pares de pinas y con 22 a 39 pares por pinna. Sus flores están agrupadas en cabezuelas amarillas. El fruto es una legumbre aplanada que no abre, y mide hasta 17 cm de largo. Crece en selvas secas y es abundante en lugares perturbados. Crece casi en todo México como un arbusto en lugares abiertos y expuestos al sol. Su corteza tiene uso medicinal, el tallo se usa como combustible, el fruto por sus taninos y las hojas se han reportado usadas como forraje (Dorado et al., 2012).

4.8.1. Distribución

La distribución en México de *Acacia cochliacantha* corresponde a los estados de Chiapas, Chihuahua, Colima, Estado de México, Guerrero, Michoacán, Morelos, Jalisco, Nayarit, Oaxaca, Sonora, Puebla, Sinaloa y Veracruz (Sibaja-Hernández, 2015).

4.8.2. Usos

Los usos de este árbol son muy variados, entre los más comunes se encuentra su uso como leña o carbón; madera para construcción, postes para cerca viva, manufactura de herramientas, ramas para naturaleza muerta y las vainas se utilizan para la alimentación del ganado estabulado (Sibaja-Hernández, 2015).

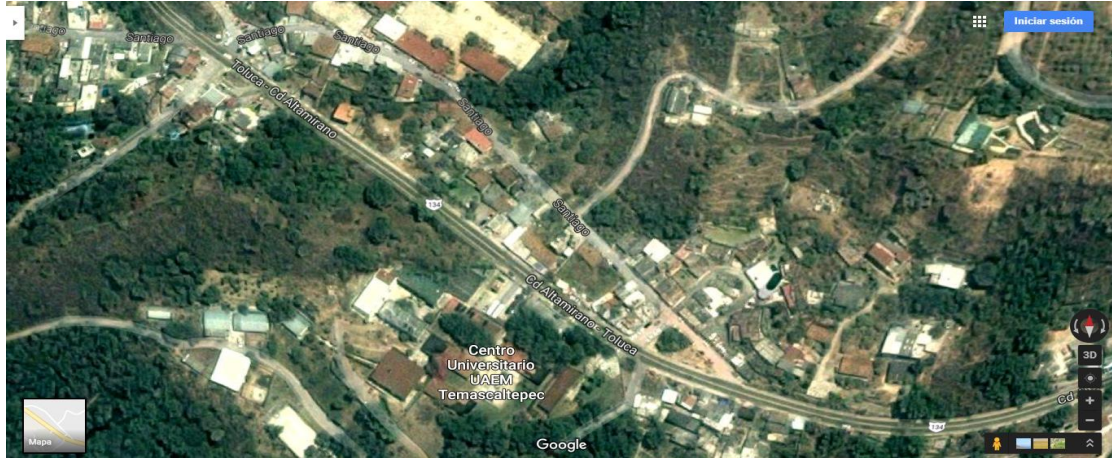
4.8.3. Valor nutritivo

De acuerdo a lo reportado por Quiroz-Cardozo et al. (2015), los frutos de *Acacia cochliacantha*, tienen un contenido de MS de 88.5 %, 14.7 % de proteína cruda, 1.2 % de grasa bruta, 55% de FDN y 38.3 de FDA y una concentración de fenoles totales de 2.3 %, así como 0.3 % de Taninos condensados.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.2. Sitio experimental

El estudio se realizó en el área metabólica y laboratorio de nutrición animal del Centro Universitario UAEM Temascaltepec, que se encuentra a una altura de 1740 msnm, con clima cálido sub-húmedo y presencia de lluvias en verano (AW) (García, 1986).



6.3. Colección del material vegetal

Las hojas de *A. cochliacantha* utilizadas como aditivo, fueron recolectadas en el municipio de Amatepec, ubicado en la zona sur del Estado de México, la colecta se realizó durante la mañana, las hojas se depositaron en una hielera, para posteriormente trasladarlas al laboratorio de Nutrición Animal del Centro Universitario UAEM Temascaltepec, donde fueron secadas a la sombra, y almacenadas en un lugar seco y fresco para su posterior uso en la formulación de dietas experimentales.

6.3. Prueba de respuesta productiva

Durante todo el periodo experimental, los animales fueron cuidados, manejados y sacrificados de acuerdo a los lineamientos de la norma: NOM-051-ZOO-1995, cuidado humanitario de los animales durante la movilización y NOM-033-ZOO-1995: sacrificio de los animales domésticos y de vida silvestre.

6.4. Animales, manejo y tratamientos

Se utilizaron 21 corderos cruzados (Dorper x Pelibuey) con peso promedio inicial de 35.1 ± 0.6 kg, y edad de 4 meses. Mismos que fueron alojados en corraletas individuales, provistas de sombra, comedero y bebederos individuales; esto con la finalidad de los animales, tuvieran el mayor confort posible y disminuir el error experimental asociado a la ejecución del experimento.

Los corderos fueron adaptados a las corraletas individuales y dieta basal quince días de iniciar el periodo experimental, en esos días fueron desparasitados con 0.75 ml de Ivermectina, (SanFer®, México D.F., México) y vitaminados (2.0 ml de Vigantol ADE, (Bayer®, México D.F., México) por animal. Al inicio del experimento, los corderos fueron pesados individualmente y estratificados de acuerdo a su peso, formando siete bloques de tres animales cada uno; de esta manera se asignaron los tratamientos al azar dentro de cada bloque, mismos que se describen a continuación:

- 1) dieta basal (Control, 0 % de hojas de *Acacia cochliacantha* /kg MS), tratamiento control (testigo).
- 2) dieta basal suplementada con 0.25% de hojas de *Acacia cochliacantha*/kg MS), *tratamiento 2*.
- 3) dieta basal suplementada con 0.50% de hojas de *Acacia cochliacantha*/kg MS). *Tratamiento 3*.

Durante todo el periodo experimental fue monitoreado el estado de salud de los animales.

6.5. Alimentación

La dieta basal en una relación 85:15 concentrado forraje fue ofrecida en tres frecuencias de alimentación (7, 13 y 18 h) con la finalidad de tener fermentación homogénea a través del día y así evitar trastornos metabólicos y variaciones fuertes en el consumo de alimento, y de esta manera poder evaluar de una manera más exacta el efecto de los tratamientos. El periodo de alimentación tuvo una duración de 30 días.

Cuadro 2. Ingredientes y composición química de dietas para ovinos en finalización adicionadas con diferentes niveles de hojas de *A. cochliacantha*.

| | Tratamientos* | | |
|---|---------------|-------|-------|
| | T0 | T1 | T2 |
| Ingrediente, % | | | |
| Maíz molido | 23.4 | 23.4 | 23.4 |
| Sorgo molido | 25.2 | 25.2 | 25.2 |
| Salvado de trigo | 11.7 | 11.7 | 11.7 |
| Pasto estrella | 13.5 | 13.5 | 13.5 |
| Pasta de soya | 12 | 12 | 12 |
| Melaza | 7.7 | 7.7 | 7.7 |
| Urea | 1.2 | 1.2 | 1.2 |
| Pre mezcla de minerales | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| Levaduras | 2.7 | 2.7 | 2.7 |
| <i>A. cochliacantha</i> | 0 | 0.25 | 0.50 |
| Composición química, (gkg ⁻¹ MS) | | | |
| Materia seca | 808.6 | 808.8 | 809.1 |
| Proteína cruda | 126.2 | 126.7 | 129.5 |
| Extracto etéreo | 42.7 | 42.0 | 43.1 |
| Ceniza | 58.1 | 62.7 | 59.5 |
| FDN | 331.5 | 361.8 | 362.0 |
| FDA | 215.7 | 242.0 | 266.6 |

MS materia seca, FDN fibra detergente neutro, FDA fibra detergente ácido, * porcentaje de inclusión de hojas secas de *A. cochliacantha*.

Cuadro 3. Composición química y concentración de taninos condensados (g . kg⁻¹ MS) en hojas de *Acacia cochliacantha*.

| Especie | MO | PC | FDN | FDA | TCL | TCP | TCF |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| <i>A. Cochliacantha</i> | 937.0 | 163.0 | 698.6 | 581.7 | 140.0 | 26.0 | 36.0 |

MO materia orgánica, PC proteína cruda, FDN fibra detergente neutro, FDA fibra detergente ácido, TCL taninos condensados libres, TCP, taninos condensados ligados a proteína, TCF taninos condensados ligados a proteína

El análisis químico proximal y fraccionamiento de fibras se realizó en el Laboratorio de Nutrición Animal del Centro Universitario UAEM Temascaltepec, utilizando la metodología propuesta por el AOAC (1990) y Van Soest, *et al.* (1991).

6.6. Comportamiento productivo de los animales

La fase del comportamiento productivo, tuvo una duración de 30 días. Durante este periodo experimental la ración fue ofrecida diariamente en tres frecuencias (7, 13 y 18 h). La cantidad de alimento ofrecido y rechazado fue pesado y registrado diariamente para determinar el consumo de alimento base tal como se ofrece, muestras de alimento ofrecido y rechazado fueron tomadas y secadas en estufa de aire forzado (60 °C) hasta peso constante. Las muestras secas fueron molidas en un molino Willey Mill (Wiley Mill Model 4; Thomas Scientific, Swedesboro, N.Y.) equipado con criba de 2 mm de diámetro. De esta forma se analizó materia seca (MS), materia orgánica (MO), cenizas (CEN), extracto etéreo (EE) y proteína cruda (PC) de acuerdo a la metodología propuesta por el AOAC (1990). La concentración de fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) fueron determinadas según Van Soest *et al.* (1991) utilizando las modificaciones tecnológicas de Ankom (Ankom, 200 Fiber Analyzer, Ankom Technology, Fairport, NY). El contenido de MO fue estimado mediante la sustracción [100 – el contenido de cenizas]. Todos los corderos fueron pesados individualmente al inicio del

experimento, 15 y 30 días, antes de ofrecer el alimento por las mañanas. A partir de estos datos colectados; se estimaron las siguientes variables de respuesta.

6.7. Variables respuesta

Consumo diario de materia seca: Se determinó mediante el alimento ofrecido menos el rechazo, dichas cantidades se ajustaron hasta que los animales alcanzaron su consumo voluntario, el cual se incrementó en 15% hasta obtener un rechazo equivalente.

Ganancia diaria de peso: Al inicio del experimento, todos los animales fueron pesados para cuantificar el peso vivo inicial y de la misma manera a intervalos de 15 días, con la finalidad de poder apreciar el fenómeno a través del tiempo; los animales estuvieron en ayuno al menos 12 horas en los días respectivos de pesado.

Conversión alimenticia: Fue calculada a partir de la cantidad de alimento que se necesita para que el animal aumente su peso en un kg ($CA = CMS/GDP$).

Eficiencia alimenticia (EFA): Fue cuantificado mediante el cociente de la cantidad de peso que gana el animal por cada kg de materia seca que consume ($EFA = GDP/CMS$).

Ganancia de peso vivo total: Se determinó mediante la sustracción del Peso vivo inicial menos el peso vivo final durante el periodo experimental de 30 días.

6.8. Diseño experimental

El diseño experimental que se utilizó fue un diseño de bloques completos al azar, donde cada cordero fue considerado como unidad experimental.

$$Y_{ij} = \mu + \beta_j + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = Variable respuesta (*Consumo diario de materia seca, Ganancia diaria de peso, Conversión alimenticia, Eficiencia alimenticia, Ganancia de peso vivo total*) del i-ésimo tratamiento anidado en el j-ésimo bloque.

μ = Media general

$\beta_j (T_i)$ = Efecto de i-ésimo tratamiento anidado dentro del j-ésimo bloque

ε_i = Error experimental ($N(0, \sigma^2)$).

Cada tratamiento se asignó al azar a los animales dentro de cada bloque, formando siete bloques completos; es decir todos los tratamientos estuvieron representados en cada bloque (Steel y Torrie, 1980)

6.9. Análisis estadístico

La información se analizó con un análisis de varianza bajo un diseño de bloques completos al azar usando el PROC GLM del programa SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, 1991). Considerando a cada cordero como unidad experimental. Las diferencias entre tratamientos, LSMEANS. Los efectos se consideran significativos cuando $P \leq 0.05$ y tendencias cuando $P > 0.10$.

VI. RESULTADOS

Para la ganancia total de peso existió diferencia significativa ($P < 0.05$), observando un efecto cuadrático, donde el tratamiento T1 presentó la mejor ganancia (7.01 kg), mientras que el tratamiento T2 (6.29 kg) resultó similar al control T0 (5.32 kg) (Cuadro 3), el mismo efecto fue observado para la ganancia diaria de peso, ($P < 0.05$) donde el tratamiento T1, ($0.351 \text{ kg día}^{-1}$), obtuvo mejor desempeño, mientras que se obtuvieron 0.261 y $0.317 \text{ kg día}^{-1}$ para los tratamientos T0 y T2 respectivamente. El consumo de materia seca, fue similar entre tratamientos ($P > 0.05$), (Cuadro 3).

Para el caso de la conversión alimenticia resultaron más eficientes los tratamientos que contenían hojas deshidratadas de *A. cochliacantha* ($P < 0.05$), observando un efecto lineal, donde a medida que se incrementó la cantidad de hojas hubo una disminución de la cantidad de alimento requerido por kg de carne producido. Obteniendo una eficiencia de 20, 19 y 14 % para los tratamientos T2, T1 y T0 respectivamente (Cuadro 3).

Cuadro 4. Comportamiento productivo de borregos en finalización suplementados con diferentes niveles de hojas de *Acacia cochliacantha*.

| Variable | A. Cochliacantha (MS kg) | | | (% EEM) | Valor P | EL | EC |
|-----------|--------------------------|--------------------|--------------------|---------|---------|------|------|
| | 0.00 | 0.25 | 0.50 | | | | |
| PVI, kg | 42.75 | 44.44 | 43.72 | 0.185 | -- | -- | -- |
| GTP, kg | 5.32 ^b | 7.01 ^a | 6.29 ^b | 0.185 | 0.04 | 0.14 | 0.04 |
| GDP, kg | 0.261 ^b | 0.351 ^a | 0.317 ^b | 0.010 | 0.05 | 0.13 | 0.05 |
| CMS, kg/d | 1.80 | 1.82 | 1.69 | 0.047 | 0.70 | 0.51 | 0.58 |
| CA, kg | 7.09 ^a | 5.42 ^b | 5.35 ^b | 0.216 | 0.05 | 0.03 | 0.23 |
| EA, | 0.14 ^b | 0.19 ^a | 0.20 ^a | 0.007 | 0.07 | 0.03 | 0.37 |

Medias en la misma fila con distinta literal difieren ($P \leq 0.05$), EL efecto lineal, EC efecto cuadrático, PVI peso vivo inicial, GTP ganancia total de peso, GDP ganancia diaria de peso, CMS consumo de materia seca, CA conversión alimenticia, EA eficiencia alimenticia, EEM: Error estándar de la media.

VII. DISCUSIÓN

Los diferentes niveles de suplementación de *A. cochliacantha* como fuente de TCL, que se utilizaron en este trabajo, generaron efecto sobre la ganancia de peso, similar a lo citado por Waghorn (2008), donde reportan mejoras sobre la ganancia de peso, producción de lana y eficiencia reproductiva, además de la reducción del impacto de los parásitos gastrointestinales, pero contrario a lo reportado por Velázquez (2013), donde la suplementación con diferentes fuentes de TC no generó efecto, esta diferencia debido probablemente a la cantidad o la fuente de TC presentes en las dietas, ya que puede generar variación (Dentinho *et al.*, 2014). A pesar de que se encontraron diferencias significativas tras la suplementación con *A. cochliacantha*, algunos trabajos reportan ganancias diarias de peso superiores a las encontradas en este trabajo por ej. Magaña *et al.* (2015) reportaron ganancias de 346 g⁻¹ día en cruces de dorper-Katahdín mientras que solo de 229 g⁻¹ día en cruces de Katahdín–Pelibuey.

La conversión alimenticia, también se mejoró por los tratamientos T1 y T2, los cuales contenían 0.25 y 0.50 % de inclusión de hojas de *A. cochliacantha* respectivamente, observando un efecto lineal conforme se incrementó la cantidad en la dieta, debido probablemente a que la inclusión de algunos compuestos secundarios principalmente TC pueden mejorar la digestibilidad de los nutrientes actuando como protectores a nivel ruminal principalmente de la proteína, evitando la degradación bacteriana y en consecuencia permitir que una mayor cantidad de nutrientes pasen al intestino delgado, donde pueden ser absorbidos y generar una mayor eficiencia de los alimentos (Min *et al.*, 2006). Castro *et al.* (2011), mencionan que la presencia moderada de TC en la dieta puede modificar el número y el comportamiento de algunos géneros de los microorganismos ruminales, haciendo más eficiente la degradabilidad.

El consumo de materia seca no fue afectado por los niveles de inclusión lo que resulta similar a lo reportado por Velázquez (2013), debido a que la cantidad de

TC presentes en las dietas son bajos, ya que se ha reportado que los efectos sobre el consumo de materia seca, son evidentes en concentraciones mayores a $55 \text{ g}^{-1} \text{ kg}$ de MS, ya sea por el sabor astringente que generan al unirse con la saliva o por la disminución de los microorganismos ruminales, principalmente bacterias y protozoarios degradadores de la fracción fibrosa del alimento (Min et al., 2003), generando un retraso en la tasa de pasaje provocando un efecto de saciedad y por lo tanto una disminución del consumo de alimento (Priolo y Vasta, 2007). Sin embargo, los consumos encontrados en este trabajo de $1.67 \text{ g}^{-1} \text{ día}$ en promedio, son superiores a los reportados en otros trabajos para estas razas sin la utilización de fuentes de TC (Ríos et al., 2011), en otros trabajos se han encontrado consumos para cruza de Dorper–Pelibuey, Katahdin-Pelibuey de $1.5 \text{ g}^{-1} \text{ día}$ y $1.3 \text{ g}^{-1} \text{ día}$ respectivamente (Macías et al., 2010).

A pesar de que para la eficiencia alimenticia no se encontraron diferencias estadísticas podemos observar un ligero incremento en los tratamientos que contenían hojas, contrario a lo encontrado por Velázquez (2013), quien reporta una disminución de esta variable dependiendo de la fuente y la concentración de TC en la dieta, en comparación con la dieta testigo, sin embargo la eficiencia fue similar en ambos trabajos para los tratamientos que contenían alguna fuente de TC.

VIII. CONCLUSIÓN

La inclusión de hojas deshidratadas de *A. Cochliacantha* como fuente de taninos condensados libres en la dieta de ovinos durante la finalización en engorda intensiva en corral mejora la ganancia diaria de peso y conversión alimenticia.

IX. ANEXOS

Técnicas de laboratorio

Análisis químico proximal

El estudio de la composición química de los alimentos de origen animal y vegetal es el punto de partida para el entendimiento de los procesos fisiológicos responsables para la transformación de los compuestos complejos a la transformación de productos de origen animal, principalmente en función de la disponibilidad de energía y de otros nutrientes.

El sistema de análisis químico proximal de ingredientes y alimentos para animales fue desarrollado durante la segunda mitad del siglo XIX en Alemania por Hennenberg y Stohman en la Estación Experimental de Weende. Por lo tanto, este sistema también se conoce como el Análisis de Weende. El análisis químico proximal incluye la determinación que se muestran en la figura 1.

La determinación de estas fracciones es frecuentemente el punto de partida de análisis más detallados para nutrientes específicos; sin embargo, tiene limitaciones que deben ser consideradas.

Humedad y materia seca

Material y equipo:

- a) Estufa de aire forzado calibrada en un rango de temperatura de 55 a 110 °C.
- b) Desecador provisto de gel de sílice con indicador de humedad.
- c) Bolsas de papel

d) Crisoles de porcelana de 3-4cm de diámetro y de 2.3 cm de altura o cápsula de aluminio.

Principio:

La humedad de una muestra se pierde por su volatilización a causa de calor aplicado. El porcentaje es calculado por diferencia en el peso.

Procedimiento:

Si la muestra es fresca, se debe obtener un peso de ella, o de una porción significativa; inmediatamente después se debe poner a secar en una estufa de aire forzado por varios días a una temperatura de 55 °C. Después de este tratamiento, se pesa de nuevo la muestra, y por diferencia se calcula como un porcentaje de humedad a 55°C. 100 menos este valor es el porcentaje de esta materia seca (MS) a 55°C. Esta muestra puede entonces molerse en un molino Willey o algún otro, con el fin de obtener una muestra más homogénea para determinaciones posteriores.

Una vez que la muestra llega a su estado seco, se puede guardar en frascos de vidrio plenamente identificados y almacenados a temperatura ambiente, si su análisis se va a realizar pronto o bien en un cuarto con aire acondicionado para análisis posteriores, con el fin de evitar cambios en su composición real.

Par determinar humedad a 110°C, se colocan charolas de aluminio o en crisoles de porcelana en una estufa a 110°C por lo menos durante una hora. Se sacan y se colocan en un desecador hasta que se enfríen a temperatura ambiente (3-5 minutos). Las charolas o crisoles deben pesarse en una balanza analítica, usando pinzas de metal para manejarlas. Se pesan 2 gramos de cada muestra y se colocan en la estufa a 110°C de 18 a 24 h; una vez transcurrido este tiempo,

deben enfriarse en un desecador, repitiéndose el procedimiento anterior. Cada muestra se analiza por triplicado o duplicado.

Cálculos:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{\text{Pérdida de peso (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

$$\text{Materia seca (\%)} = 100 - \text{Humedad (\%)}$$

El residuo de este análisis puede ser guardado en un desecador para ser usado en la determinación de extracto etéreo o cenizas. Todas las subsecuentes determinaciones del análisis proximal serán hechas y expresadas en por ciento de la muestra en base seca.

Cenizas

Material y equipo:

- a) Balanza analítica.
- b) Desecador provisto de gel de sílice con indicador de humedad.
- c) Mufla de incineración para alcanzar temperaturas de 550-600 °C.
- d) Crisoles de porcelana de 3-4 cm de diámetro y de 2.3 cm de altura o cápsula de aluminio.

Procedimiento:

- a) Pesar 1 o 2 g (± 0.01 g) de muestra seca en crisol previamente pesado (peso del crisol totalmente seco, o bien que tenga peso constante).
- b) Introducir a la mufla y calentar a 550-600°C (el incremento de la temperatura se recomienda sea a intervalos de 15 minutos de 100 °C).
- c) Una vez que se alcancen los 550-600°C, dejar la muestra que se calcine por un periodo de seis horas.
- d) Enfriar la mufla hasta 100°C.
- e) Sacar los crisoles y colocarlos en el desecador durante 5 minutos.
- f) Registrar el peso de los crisoles y las cenizas (peso final).
- g) Calcular el % de cenizas.

Cálculos:

$$\text{Cenizas (\%)} = \left[\frac{\text{Peso final (g)} - \text{Peso del crisol (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \right] \times 100$$

Determinación de los compuestos nitrogenados

En la química húmeda existen dos métodos para determinar el contenido de nitrógeno de los alimentos, la diferencia entre ellos radica en la cantidad de muestra y reactivos utilizados, en el presente apartado de plasma el Método del Macro-Kjeldahl y Micro-Kjeldahl.

Determinación por Macro-Kjeldahl

Equipo

- 1) Aparato de digestión (bloque digestor) y destilación Macro-Kjeldahl y sus accesorios.
- 2) Matraces Erlen Meyer de 500 ml.
- 3) Bureta de 50 ml.

Reactivos

- 1) Ácido sulfúrico concentrado, grado reactivo.
- 2) Solución de hidróxido de sodio al 40% (0.800 g de NaOH/2 L de agua destilada).
- 3) Solución valorada de ácido clorhídrico al 0.1 N (8.3 ml de ácido clorhídrico concentrado/L de agua destilada). Comprobar por titulación.
- 4) Solución de ácido bórico al 4% (40 gL⁻¹ de agua destilada)
- 5) Solución indicadora (20 mg de rojo de metilo + 100 mg de verde de bromocresol y aforar a 100 ml con alcohol etílico al 96% comercial).
- 6) Solución boratada indicadora (a un litro de solución boratada al 4% agregar 7 ml de solución indicadora).

7) Mezcla catalizadora (96 g de sulfato de sodio, 3.5 g de sulfato de cobre y 0.5 g de selenio negro).

8) Granallas de zinc.

Principio

El método de Kjeldahl para la determinación de proteína- nitrógeno consiste en la conversión de proteína-nitrógeno a sulfato ácido de amonio durante la digestión de la materia orgánica con ácido sulfúrico y calor, en la presencia de un catalizador. Una vez que la materia orgánica se ha desintegrado completamente, la solución se neutraliza con hidróxido de sodio, liberándose amoníaco el cual es destilado por arrastre con vapor dentro de una solución de ácido bórico, para formar un complejo boro-amoniaco (tetraborato de amonio). La cuantificación del nitrógeno se logra cuando una solución de ácido previamente valorado (ácido clorhídrico al 0.1 N) se añade a la solución formando por cada equivalente de boro-amoniaco, un equivalente del sulfato-amoniaco (sulfato de amonio). Aquí, 1 ml del ácido estandarizado neutraliza 0.014 g de nitrógeno en forma de ión amonio.

La exactitud de la determinación de proteína-nitrógeno radica en el peso de la muestra original, el volumen y la concentración del ácido estándar usado. Todas las otras concentraciones, adiciones o manipuleos pueden ser aproximado a los descritos en el procedimiento, pero no tienen que ser exactos.

Digestión

Pesar exactamente una cantidad entre 1 y 2 g de la muestra dependiendo del contenido de nitrógeno estimado, en un papel que se dobla cuidadosamente; identificar la muestra usando lápiz. El uso del papel para envolver la muestra es con el fin de evitar que la muestra quede pegada en el cuello del matraz Kjeldahl al depositarla. Como blancos, usar un pedazo del mismo papel y todos los reactivos. Agregar entre 5-10 g de la mezcla catalizadora y añadir 25 ml de ácido sulfúrico concentrado. Colocar el matraz en las parrillas del digestor y encenderlas, cuidando

de poner a funcionar el extractor de gases. La digestión tarda 50 minutos o hasta que la solución se torna transparente o de un color verde pálido. Cuidar de que toda la materia orgánica sea desintegrada (oxidada), por lo que es conveniente rotar los frascos durante la digestión.

Una vez terminada la digestión se apagan las parrillas y dejar los matraces en posición con el extractor encendido hasta que se enfríen. Precaución: El humo blanco y denso que se observa está formado de trióxido de azufre, el cual es irritante. Cuando los frascos se han enfriado lo suficiente, se añaden 200 ml de agua destilada y se agita el matraz hasta que cualquier material cristalino se disuelva, en caso de formarse. El análisis puede suspenderse en este punto en caso de que sea necesario, pero hay que tener la precaución de taparlos debidamente.

Destilación

Depositar en un matraz Erlen Meyer de 500 ml, 100 ml de la solución boratada indicadora y colocarlo debajo del refrigerante del destilador, teniendo cuidado de que el tubo de hule del refrigerante quede sumergido en la solución. Se adicionan unas cuantas granallas de zinc (8-10), e inmediatamente después, agregar muy lentamente por las paredes del matraz en posición inclinada, 100 ml de la solución de hidróxido de sodio al 40%, de tal manera que se formen dos capas y se debe colocar rápidamente el matraz en las parrillas de destilación y conectarlo al condensador perfectamente. Encender las parrillas y destilar hasta que un mínimo de 300 ml hayan sido recolectados en el matraz Erlen Meyer. Retirar el matraz con el destilado y luego apagar las parrillas (de lo contrario la muestra será sifoneada al matraz de Kjeldahl).

Titulación

Se titula la solución destilada con la solución valorada de ácido clorhídrico al 0.1 N (aproximadamente), anotando la cantidad (ml) del ácido al 0.1 N que se requieran para que el destilado cambie de un color verde a un rosado claro.

Para calcular la cantidad de nitrógeno en la muestra se utilizan los siguientes datos y fórmulas:

1) Un ml de HCL al 0.1 N= ml de ácido gastados en la muestra

corregidos = ml de ácidos gastados en el blanco.

2) Normalidad del ácido clorhidrico : 0.1 (otros tres dígitos).

3) Peso de la muestra.

4) El factor de ajuste para nitrógeno que será 0.014 miliequivalentes multiplicado por 100 para sacar el porcentaje.

Así pues, la fórmula quedaría:

$$\% N = \frac{(\text{ml})(\text{Normalidad del ácido})(1.4)}{\text{Peso de la muestra en gramos}}$$

Peso de la muestra en gramos

y la proteína calculada sería = % N x 6.25

Proteína cruda por el método micro-Kjeldahl

Material y Equipo:

- a) Campana de extracción de gases.
- b) Aparato de digestión micro-Kjeldahl.
- c) Tubos de ensayo 100 ml.
- d) Matraz de Kjeldahl 500 ml.
- e) Destilador macro Kjeldahl.
- f) Matraces Erlenmeyer de 50ml.
- g) Bureta de 50ml.
- h) Pipetas de 5 y 20 ml.

Reactivos:

- a) Ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado.
- b) Solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 40% (400 g L^{-1} de agua destilada).
- c) Solución de ácido bórico (H_3BO_3) al 4% (40 g L^{-1} de agua destilada).
- d) Solución indicadora de rojo de metilo y verde de bromocresol (70 mg de rojo de metilo en 70 ml de alcohol etílico, 100 mg de verde de bromocresol el 100 ml de alcohol etílico y mezclar ambas soluciones).
- e) Mezcla catalizadora [96g de sulfato de sodio (Na_2SO_4), 3.5g de sulfato cúprico (CuSO_4) y 0.5g de selenio].
- f) Solución valorada de HCL cercana al 0.1 N (8.3 ml L^{-1} de agua destilada).
Comprobar por titulación

Principio:

El nitrógeno de las proteínas y de otros compuestos se transforma a sulfato de amonio por medio de la digestión con ácido sulfúrico en ebullición, el residuo se enfría, se diluye con agua y se le agrega hidróxido de sodio. El amonio presente se desprende y a la vez se destila y se recibe en una solución de ácido bórico que luego es titulado con una solución de ácido estandarizado en presencia de un indicador apropiado. La exactitud de la determinación de proteína-nitrógeno radica en el peso de la muestra original, el volumen y la concentración del ácido estándar usado. Todas las otras concentraciones, adiciones o manipuleos pueden ser aproximados.

Procedimiento:

Todo el material tiene que ser lavado y enjuagado con agua destilada antes de su utilización

Digestión

- a) Pesar de 0.3 a 0.5 g de muestra y depositarlas en un tubo de vidrio.
- b) Identificar el tubo con un marcador o etiquetas y adicionar 6 ml de H_2SO_4 concentrado y 1 g de mezcla catalizadora (dejar reposar durante 12 h).
- c) Colocar los tubos en el digestor e incrementar la temperatura gradualmente hasta alcanzar $350^\circ C$, digerir toda la materia orgánica (esto proceso puede variar desde 4 hasta 6 horas) mantenga encendidas las campanas de extracción. Mantenga en observación el proceso de digestión hasta que cese la formación de espuma. Si la espuma en una muestra determinada empieza a subir por el cuello del tubo retírelo del digestor para que la espuma desaparezca y luego vuelva a colocarlo. Continúe la digestión hasta que la solución se torne a un color verde pálido (dejar enfriar y mantener la campana de extracción encendida para permitir el escape de todos los gases).

Destilación

- a) Disolver el contenido del tubo en la mínima cantidad de agua destilada (40ml)
- b) Transferir al matraz de Kjeldahl el contenido del tubo, lavando este con la misma cantidad de agua destilada y agregar 3 perlas de vidrio a cada matraz.
- c) En el extremo del condensador, colocar un matraz Erlenmeyer de 50 ml con 15ml de solución de ácido bórico al 4% y 3 gotas de indicador verde bromocresol-rojo de metilo (el indicador puede agregarse previamente en la solución ácido bórico al 4 %, agregando 17 ml de indicador L⁻¹ de solución de ácido bórico), cuidando que el extremo del condensador quede sumergido dentro de la solución.
- d) Adicionar 15ml de NaOH al matraz de Kjeldahl, manteniéndolo inclinado para que solución deslice por el costado hasta el fondo (de esta manera se evitara el inicio de la reacción y el escape del nitrógeno) del tal manera que forme dos capas, colocarlo en las parrillas de destilación en el nivel 6 y destilar hasta obtener 50ml del destilado, enjuagar el extremo del condensador con la mínima cantidad de agua y retirar el matraz Erlenmeyer.

Titulación

- a) Titular el destilado con la solución valorada de ácido al 0.1N hasta obtener un color rosa tenue, y debe registrarse la cantidad de ml gastados en la titulación.
- b) Hacer un blanco siguiendo todo el procedimiento.

Cálculos:

$$N (\%) = \frac{(ml \text{ gastados de HCl} - ml \text{ gastados en el blanco}) \times Normalidad \text{ HCl} \times 1.401}{(g \text{ de la muestra})(coeficiente de MS)}$$

$$Proteína \text{ calculada} = Nitrógeno \times 6.25$$

Fibra Detergente Neutro (FDN) en Alimentos, técnica de la bolsa de filtro (ANKOM200)

Material y equipo:

- a) Balanza analítica con sensibilidad de peso de hasta 0.1mg.
- b) Estufa de aire forzado con para temperatura de secado de 102±2°C.
- c) Digestor de fibra para realizar digestión a 100±5°C y a una presión de 10-25 psi. El instrumento debe tener la particularidad de crear un flujo de presión de detergente neutro homogéneo alrededor de cada una de las muestras para garantizar la uniformidad de la extracción. Se recomienda el instrumento (ANKOM²⁰⁰, agitación a 65 rpm, Tecnología ANKOM, puede variar el modelo, Figura 1).
- d) Bolsas filtro: construidas de químicos inertes y resistentes al calor, capaz de ser cerrada y sellada al calor y con habilidad de retener partículas de 25 micrones permitiendo al mismo tiempo la rápida penetración de la solución (F57, Tecnología ANKOM). Figura 2.
- e) Sellador a calor: suficiente para sellar y cerrar las bolsas filtro para garantizar el cierre completo (1915, Tecnología ANKOM). Figura 3.

- f) Desecador bolsa: bolsa de cierre plegable con desecante interior que permite la eliminación de aire alrededor de las bolsas filtro (Bolsa para detener la humedad, Tecnología ANKOM).
- g) Marcador: resistente a los ácidos y solventes (F08, Tecnología ANKOM).

Reactivos:

- a) Solución Detergente Neutro (30.0 g de lauril sulfato de sodio, 18.61 g EDTA sal di-sódica di-hidratado, 6.81 g de tetraborato de sodio deca-hidratado, 4.56 g fosfato de sodio dibásico Anhidro, 10 ml de trietilenglicol, en 1L de H₂O destilada). Checar el rango de pH de 6.9 a 7.1.
- b) Alfa-amilasa: alfa-amilasa bacteriana termo estable: actividad=17,400 unidades/ml (FAA, Tecnología ANKOM). Cuando las muestras contengan granos o cereales.
- c) Sulfito de sodio: Na₂SO₃, anhidro (FSS, Tecnología ANKOM).

Principio:

El principio de la técnica se basa en la solubilidad de los compuestos que integran la pared celular de la célula vegetal; es un método rápido para la determinación de las fracciones de fibra totales contenida en los alimentos vegetales consumidos por los animales. Aparentemente divide la materia seca al punto de que separa los constituyentes nutricionales solubles y accesibles, de aquellos que no son totalmente aprovechables, o que dependen de la fermentación microbológica para su aprovechamiento. Este método determina la fibra detergente neutro, que es el residuo que queda después de digerir el sustrato en una solución detergente. Los residuos son predominantemente hemicelulosa, celulosa y lignina. Este método es aplicable para granos, alimentos forrajes y todos los materiales fibrosos.

Procedimiento:

Las bolsas tienen una cantidad de humedad insignificante por lo que no necesitan secarse, pero deben manipularse con pinzas. Usar un marcador resistente a solventes o un lápiz para etiquetar las bolsas filtro.

- a) Pesar la bolsa ANKOM registrando el peso y tarando a cero (W_1).
- b) Pesar $0.45g \pm 0.01g$ (W_2) directamente en la bolsa filtro, registrar el peso exacto y sellar el extremo de la bolsa con el sellador ANKOM (1915, Tecnología ANKOM).
- c) Pesar una o dos bolsas para utilizarlas como blanco.
- d) Colocar las bolsas dentro del instrumento de digestión (ANKOM²⁰⁰, agitación a 65 rpm, Tecnología ANKOM), Agregar 1900 mL o 2000 ml de solución detergente neutro a temperatura ambiente (40 ml bolsa^{-1}), si se trata de algún grano es indispensable agregar una enzima amilolítica (Takatherm o Diazime) a razón de 5 mL por bachada directamente a digestor Ankom, esto para no tener efectos confundidos sobre el almidón presente en la muestra .
- e) Calentar ($90-102^\circ\text{C}$) y agitar (65 rpm) durante 75 minutos.
- f) Posterior a este periodo, lavar con agua caliente hasta eliminar espuma proveniente del detergente neutro. Repetir el procedimiento tres ocasiones.
- g) Colocar las bolsas en toallas de papel absorbente y quitar suavemente el exceso de agua.
- h) Pasar las bolsas a un vaso de precipitado de 250 ml, agregar 200 ml de acetona y remojar de 3 a 5 min.
- i) Colocar nuevamente las bolsas en toallas de papel absorbente para eliminar el exceso de acetona.
- j) Dispersar las bolsas y dejar secar al aire libre durante 10 minutos.
- k) Secar a peso constante en estufa de aire forzado a 105°C (al menos 12 h).

- l) Cumplido el tiempo de secado, sacar las bolsas de la estufa y colocarlas en un desecador durante unos minutos, pesar las bolsas y registrar el peso (W_3).

Cálculos:

$$FDN (\%) = \frac{(W_3 - (W_1 \times C_1))}{W_2} \times 100$$

Donde:

W_1 =Peso de la bolsa (g)

W_2 =Peso de la muestra (g)

W_3 =Peso de la después del proceso extracción (g)

C_1 =Factor de corrección (bolsa blanco, peso después de la extracción dividido entre el peso original)

Fibra Detergente Ácido (FDA) en Alimentos, técnica de la bolsa de filtro (ANKOM200)

Material y equipo:

- a) Balanza analítica capaz de hasta 0.1mg.
- b) Estufa: capaz de mantener una temperatura de $102 \pm 2^\circ\text{C}$.
- c) Instrumento de digestión: capaz de ejecutar la digestión a $100 \pm 5^\circ\text{C}$ y mantener una presión de 10-25 psi. El instrumento debe ser también capaz de crear un flujo similar alrededor de cada una de las muestras para garantizar la uniformidad de la extracción (ANKOM²⁰⁰, agitación a 65 rpm, Tecnología ANKOM).

- d) Bolsa filtro: construidas de químicos inertes y resistentes al calor, capaz de ser cerrada y sellada al calor y con habilidad de retener partículas de 25 micrones permitiendo al mismo tiempo la rápida penetración de la solución (F57, Tecnología ANKOM).
- e) Sellador a calor: suficiente para sellar y cerrar las bolsas filtro para garantizar el cierre completo (1915, Tecnología ANKOM).
- f) Desecador bolsa: bolsa de cierre plegable con desecante interior que permite la eliminación de aire alrededor de las bolsas filtro (Bolsa para detener la humedad, Tecnología ANKOM).
- g) Marcador: resistente a los ácidos y solventes (F08, Tecnología ANKOM), las bolsas también pueden ser marcadas con lápiz.

Reactivos

- a) Solución detergente ácido [27 ml de H_2SO_4 , 20 g Bromuro de cetil trimetil amonio (CTBA) en 1L de H_2O destilada].
- b) Acetona.

Principio:

Este procedimiento permite una rápida determinación de lignina-celulosa en los alimentos. Sin embargo, en esta fracción también aparece la sílice. La diferencia entre el valor de las paredes celulares y la fibra detergente ácido, da una estimación de la hemicelulosa, ya que esta diferencia también incluye una fracción de proteína adherida a las paredes celulares.

Procedimiento:

Una vez pesadas las bolsas utilizadas para la determinación de FDN, pueden utilizarse para la determinación de la FDA.

- a) Colocar las bolsas dentro del instrumento de digestión (ANKOM²⁰⁰, agitación a 65 rpm, Tecnología ANKOM), Agregar 1900 ml o 2000 ml de solución detergente ácido a temperatura ambiente (40 ml bolsa⁻¹).
- b) Agitar y calentar a 90-102°C por 75 minutos.
- c) Cuando el tiempo halla pasado deben realizarse lavados con agua caliente, en el segundo lavado adicionar 4 ml de amilasa (en caso de granos) y agitar por 5 min para eliminar el almidón. Repetir el lavado.
- d) Colocar las bolsas en toallas de papel absorbente y quitar suavemente el exceso de agua.
- e) Pasar las bolsas a un vaso de precipitado de 250ml, agregar 200 ml de acetona y remojar de 3 a 5 min.
- f) Colocar nuevamente las bolsas en toallas de papel absorbente para eliminar el exceso de acetona.
- g) Dispersar las bolsas y dejar secar al aire libre.
- h) Completar el secado en estufa de 105 °C durante 12 h.
- i) Cumplido el tiempo de secado, sacar las bolsas de la estufa y colocarlas en un desecador durante unos minutos, pesar las bolsas y registrar el peso (W₃).

Cálculos:

$$FDA (\%) = \frac{(W_3 - (W_1 \times C_1))}{W_2} \times 100$$

Donde:

W₁=Peso de la bolsa (g)

W₂=Peso de la muestra (g)

W₃=Peso de la después del proceso extracción (g)

C_1 =Factor de corrección (bolsa blanco, peso después de la extracción dividido entre el peso original).

Extracto etéreo (Grasa)

Equipo:

- a) Equipo de extracción Soxhlet.
- b) Papel de filtro Whatman # 541.
- c) Equipo de destilación.
- d) Balones de extracción.
- e) Estufa de aire forzado calibrada en un rango de temperatura de 55 a 110 °C.
- f) Hornilla.

Reactivos:

- a) Éter etílico o éter de petróleo

Principio:

Una cantidad previamente homogeneizada y seca, medida o pesada del alimento se somete a una extracción con éter de petróleo o éter etílico, libre de peróxidos o mezcla de ambos. Posteriormente, se realiza la extracción total de la materia grasa libre por Soxhlet.

Procedimiento:

- a) Pesar 2 g de muestra sobre papel filtro (sólo para harinas y subproducto cama pesar solo 1 g).
- b) Hacer con el papel de filtro un paquete de tal forma que la muestra quede segura. Coloque el paquete en la cámara de extracción.

- c) Pese el balón vacío, en el cual posteriormente se depositará la grasa, anote el peso. Fije el balón a la parte inferior del Soxhlet en forma segura, con la finalidad de evitar la fuga del éter de etílico.
- d) Por la parte superior del Soxhlet vierta el éter etílico hasta que por diferencia de presión baje a través del cuello del Soxhlet al balón, luego añada éter etílico hasta cubrir el paquete. Fije bien el Soxhlet a la parte inferior del refrigerante.
- e) Empezar la extracción durante 4 horas, evitando todo tipo de fuego tal como mechero, cigarrillo encendido, etc., por esta razón se utiliza hornilla debido a que el éter etílico es altamente inflamable. Controle que el flujo de agua en el refrigerante no se interrumpa, si esto ocurriese, detener la extracción hasta que se regule el flujo adecuado del agua.
- f) Después de las 4 horas de extracción recuperar el solvente a medida que se condense en la cámara de extracción. El paquete de la muestra se guarda para su posterior análisis de fibra. Evite que la grasa depositada en el balón se queme, deje enfriar el balón conteniendo la grasa para luego colocarlo en la estufa durante una hora, con la finalidad de que el éter etílico se evapore completamente y sólo se quede la grasa como remanente.
- g) Después de estar una hora en la estufa, deje enfriar a temperatura ambiente. Pese el balón conteniendo la grasa y registre el peso. (peso final)

Cálculos:

$$\text{Grasa (\%)} = \frac{\text{Pesofinal (g)} - \text{Peso del balón (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

Taninos condensados

Equipo:

- a) Centrifuga.
- b) Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 25 uv/vis.
- c) Crisol Pyrex con fondo de vidrio poroso de 40-60 μm .
- d) Agitador Vortex.
- e) Tubos para centrifuga con tapa de rosca de 50 ml.
- f) Tubos de 20 ml con tapón de rosca.
- g) Embudo de separación de 100 ml.
- h) Frascos ámbar de 50-80 ml de capacidad.
- i) Estufa de aire forzado.
- j) Baño de agua.
- k) Bomba de vacío.
- l) Liofilizadora.

Reactivos:

- a) Solución acetona-agua con ácido ascórbico al 0.1% (1 g L⁻¹ en acetona-agua (70:30)).
- b) Solución dodecil sulfato de sodio (DSS) (10 g L⁻¹ de dodecil sulfato de sodio, 50 g L⁻¹ de 2 mercaptoetanol y 10 mM de tris cloruro, ajustado a pH de 8.0 con NaOH).
- c) Solución butanol-HCL (95:5)
- d) Solución de etanol-agua (80:20)
- e) Sephadex LH-20 en etanol agua al 80% (4g de sephadex mL⁻¹ de etanol-agua)
- f) Solución etanol-agua (95:5)
- g) Solución acetona-agua (50:50)

h) Acetato de etilo

Procedimiento:

Extracción de taninos condensados libres (TCL)

- a) Por triplicado, se pesa 1 g de muestra (molida con malla de 1 mm), se colocan en tubos para centrifuga con tapa de rosca de 50 ml y se mezcla con 20 ml de la solución de ácido ascórbico al 0.1%, los tubos son agitados en un Vortex durante 3 min y son centrifugados por 15 min a 18 000 x g, este paso se repite 3 veces.
- b) Después de 3 sucesivas extracciones los sobrenadante son combinados en en un embudo de separación de 100 ml y se agregan 30 ml de éter etílico, se agita durante 3 min y se deja reposar 15 min.
- c) Después de la separación de las 2 fases, recuperándose la inferior o acuosa a la cual se aplica succión con bomba de vacio 25°C para eliminar los residuos de solventes, y se centrifuga a 18 000 x g por 15 min, para precipitar los compuestos no-taninos.
- d) El sobrenadante diluido a 50 ml con agua destilada y se almacena en frascos ámbar a 5°C, para cuantificar posteriormente el contenido de taninos libres.

Extracción de taninos condensados adheridos a la proteína (TCAP)

- a) A los residuos sólidos de la primera extracción, se adicionan 15 ml de la solución DSS y son se mezclados con un agitador Vortex
- b) Se colocan en baño maría a ebullición por 45 min, se retiran los tubos, se enfrían durante 20 min y se centrifugan durante 25 min a 18 000 x g, llevando el sobrenadante a otro tubo de centrifuga de 50 ml, este proceso se repite una vez.
- c) La combinación de sobrenadantes se vuelve a centrifugar a 18 000 x g, durante 15 min, para eliminar los residuos no fenoles.

- d) La solución se diluye a un volumen de 50 ml con la solución DSS, se deposita en frascos color ámbar y se guarda a 5 °C.
- e) Los residuos sólidos obtenidos, se colocan en cajitas de papel o de aluminio, se secan en la estufa a una temperatura de 45°C para su posterior utilización en la extracción y cuantificación de taninos condensados adheridos a la fibra.

Extracción de taninos condensados adheridos a la fibra (TCAF)

- a) Estos son extraídos y cuantificados directamente de los residuos que permanecen de la extracción de los TCAP, como se detalló anteriormente.
- b) Se pesan por duplicado 50 mg de los residuos sólidos, resultado de la extracción de los TCAP, se colocan en tubos de 20 ml con tapón de rosca y se adiciona 1 ml de DSS y 6 ml de butanol-HCL, para cuantificar TCAF.

Cuantificación de TCL, TCAP y TCAF

- a) Para el análisis de la TCL y TCAP, 1 ml de cada extracto adicionan en 6 ml de una solución recién preparada de 1-butanol en un tubo de 20 ml con tapón de rosca,
- b) Los tubos (TCAF, TCAP y TCL) debe agitarse con Vortex y debe ser colocado en un baño de agua hirviendo durante 75min, a fin de romper el los taninos condensados en antocianidinas y desarrollar color.
- c) Los tubos deben dejarse enfriar un poco y las lecturas se realizan en un espectrofotómetro a 550 nm, usando la solución butanol-HCl como blanco.
- d) El contenido de taninos condensados totales (TCT), es la suma de los valores obtenidos de TCL, TCAP y TCAF.

Preparación de estándares

- a) 1 g del forraje elegido (el de mayor concentración de taninos) se adicionan 10 ml de etanol-agua (80:20) y se deja reposar 12 h a 4°C, posteriormente, se filtra a través de un crisol Pirex con fondo de vidrio poroso (40-60 µm)

con auxilio de la bomba de vacío. Al líquido obtenido de la filtración se le adicionan 100 ml de una mezcla de sephadex LH-20 en etanol-agua (80:20) agitando suavemente por 3 min, con reposo de 1 h.

- b) La mezcla se lava con etanol-agua al 95%, en un embudo de 1 L con placa de vidrio de porosidad de 15 a 20 μm , con ligera succión al inicio. Los taninos adheridos al sephadex se eluyen con 300 ml de acetona-agua (50:50), la acetona es evaporada con bomba de vacío a 25°C, la solución del tanino se lava tres veces con un volumen igual de acetato de etilo para eliminar los residuos de acetona. El acetato de etilo remanente se evapora al vacío a 25 °C, y los líquidos con los taninos condensados se liofilizan.
- c) Las curvas se realizan empleando los taninos purificados; la concentración de taninos por ml es de 0, 55, 137.5, 275, 402.5, 550 μg , en agua para TCL a partir de una solución patrón de 550 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de taninos. Para cuantificar TCAP y TCAF la curva se elabora con DSS.

Cálculos:

Las ecuaciones de regresión se calculan utilizando los valores obtenidos en las curvas, la absorción es la variable dependiente y la concentración de taninos condensados purificados es la variable independiente.

X. LITERATURA CITADA

1. A.O.A.C. 1975. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 12th Edition. Published by the Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C.
2. Ávalos-García A., Pérez-Urria Carril E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145.
3. Barahona, R., Sanchez, S., Lascano, C.E., Owen, E., Morris, P., Theodorou, M.K. 2006. Effect of condensed tannins from tropical legumes on the activity of fibrolytic enzymes from the rumen fungus *Neocallimastix hurleyensis*. *Enzyme and Microbial Technology* 39 281–288.
4. 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.* 2007. 85:1990–1996 doi:10.2527/jas.2006-686
5. Buccioni, A., Minieri, S., Rapaccini, S., Antongiovanni, M., Mele, M. 2011. Effect of chestnut and quebracho tannins on fatty acid profile in rumen liquid- and solid-associated bacteria: an in vitro study. *Animal* 5:10, pp 1521–1530 & The Animal Consortium 2011.
6. Burggraaf, V., Waghorn, G., Woodward, S., Thom, E. 2008 Effects of condensed tannins in white clover flowers on their digestion *in vitro*. *Ani. Feed Sci and Technol.* 142 44–58
7. Cabiddu, A., Molle, G., Decandia, M., Spada, S., Fiori, M., Piredda, G., Addis, M. 2009. Responses to condensed tannins on overing sulla (*Hedysarum coronarium* L.) grazed by dairy sheep Part 2: Effects on milk fatty acid profile. *Livestock Science* 123 230–240.
8. Castro-Montoya, J.M., Makkar, H.P.S., Becker K. 2011. Chemical composition of rumen microbial fraction and fermentation parameters as affected by tannins and saponins using an in vitro rumen fermentation system. *Can. J. Anim. Sci.* 91: 433 448.

9. Cardozo, P.W., Calsamiglia, S., Ferret A., Kamel, C. 2004. effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. *J. Anim. Sci.* 82:3230–3236.
10. Chasquibol N., Lengua L., Delmas, I., Rivera, D., Bazan, D., Aguirre R., Bravo M. 2003. Alimentos funcionales o fitoquímicos, clasificación e importancia. *Rev. Per. Quin. Ing. Quin.*
11. Cortes, J.E., Moreno, B., Pabón, M.L., Avila, P., Kreuzer, M., Hess, H.D., Carulla, J.E. 2009. Effects of purified condensed tannins extracted from Calliandra, Flemingia and Leucaena on ruminal and postruminal degradation of soybean meal as estimated in vitro. *Ani. Feed Sci. and Technol.* 151 194–204
12. Dentinho, T.P., Belo, A.T., Bessa, R.J.B. 2014. Digestion, ruminal fermentation and microbial nitrogen supply in sheep fed soybean meal treated with *Cistus ladanifer* L. tannins. *Small Ruminant Research* 119 57–64.
13. Dorado, O., Flores-Castorena, A., Jesús-Almonte, J.M., Arias-Dulce, M. 2012. Árboles de Cuernavaca. Nativos y exóticos. Guía para su identificación. Trópico Seco- Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
14. Hervás, G. 2001. Los taninos de quebracho en la nutrición de ovejas, efecto sobre la fermentación en el rumen y la digestibilidad, toxicidad y utilización como protectores frente a la degradación ruminal. Tesis pp.
15. Huang, X.D., Liang, J.B., Tan, H.Y., Yahya, R., Khamsekhiew, B., Ho, Y.W. 2010. Molecular weight and protein binding affinity of Leucaena condensed tannins and their effects on in vitro fermentation parameters. *Ani. Feed Sci. and Technol.* 159 81–87.
16. Jayanegara, A., Goel, G., Makkar, H., Becker, K. 2015. Divergence between purified hydrolysable and condensed tannin effects on methane emission, rumen fermentation and microbial population in vitro. *Ani. Feed Sci and Technol.*

17. Jin, L., Wang, Y., Iwaasa A.D., Xu Z., Schellenberg, M. P., Zhang, Y.C., Liu, X.L., McAllister T.A. 2012. Effect of condensed tannins on ruminal degradability of purple prairie clover (*Dalea purpurea* Vent.) harvested at two growth stages. *Ani. Feed Sci. and Technol.* 176:17–25.
18. Martínez-Moya, T.F. 2001. Incremento de la disponibilidad intestinal de la proteína y almidón mediante la manipulación de su degradabilidad en el rumen. Tesis doctoral. Pp. 61-70.
19. Martínez-Rojero R. D. El borrego “Obispo” de la Montaña de Guerrero. *Elementos* 103 (2016) 35-39.
20. Medrano, J.A. 2000. Recursos animales locales del centro de México. *Arch. Zootec.*, 49: 385-390
21. Min, B.R., Barry, T.N., Attwood G.T., McNabb W.C. 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate : a review. *Animal Feed Science and Technology* 106 3–19.
22. Molle, G., Decandia, M., Giovanetti, V., Cabiddu, A., Fois, N., Sitzia, M. 2009. Responses to condensed tannins of flowering sulla (*Hedysarum coronarium* L.) grazed by dairy sheep Part 1: Effects on feeding behaviour, intake, diet digestibility and performance. *Livestock Science* 123 138–146.
23. Muir, J.P. 2011. The multi-faceted role of condensed tannins in the goat ecosystem. *Small Ruminant Research* 98 115–120.
24. Negrete, V.M. 2020. Características del sistema de producción trashumante en México y en el mundo. Trabajo final para obtener el diplomado de especialista en producción ovina. Universidad Autónoma del Estado de México.
25. Ntuthuko, R.M., Heitkönig, I., Scogings, P.F., Dziba, L.E., Prins, H.H., Willem, F. 2015. Condensed tannins reduce browsing and increase grazing time of free-ranging goats in semi-arid savannas. *Applied Animal Behaviour Science* 169 33–37.

26. Olmedo-Juárez, A., Rojo-Rubio, R., Arece-García, J., Mohamed-Salem, A.Z., Morales-Almaraz, E., Albarrán-Portillo, B., A. Lee-Rangel, H., Vázquez-Armijo, J.F. 2015. Extracto de lysiloma acapulcensis en la digestibilidad y fermentación ruminal de una dieta para ovinos. *Ecosistemas y recursos naturales*. 2(5):173- 182.
27. Olivas-Aguirre, F.J., Wall-Medrano, A., González-Aguilar, G.A., López-Díaz, J.A., Álvarez-Parrilla, E., de la Rosa, L.A., Ramos-Jimenez, A. 2015. Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutrición Hospitalaria*, vol. 31, núm. 1, pp. 55-66.
28. Orlandi, T., Kozloski, G.V., Alves, T.P., Mesquita, F.R., Ávila, S.C. 2015. Digestibility, ruminal fermentation and duodenal flux of amino acids in steers fed grass forage plus concéntrate containing increasing levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. *Ani. Feed Sci. and Technol.* 210 37–45.
29. Pagán, S., Wolfe, R.M., Terrill, T.H., Muir, J.P. 2009. Effect of drying method and assay methodology on detergent fiber analysis in plants containing condensed tannins. *Ani. Feed Sci. and Technol.* 154 119–124.
30. Pagán, S., Muir, J.P., Lambert, B.D., Tedeschi, L.O., Redmon, L.A. 2010. Phosphorus and other nutrient disappearance from plants containing condensed tannins using the mobile nylon bag technique. *Ani. Feed Sci. and Technol.* 156 19–25.
31. Pawelek, D.L., Muir, J.P., Lambert, B.D., Wittie, R.D. 2008. *In sacco* rumen disappearance of condensed tannins, fiber, and nitrogen from herbaceous native Texas legumes in goats. *Ani. Feed Sci. and Technol.* 142 1–16.
32. Peñarrieta, M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., Bravo, J. A. 2014. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, vol. 31, núm. 2, pp. 68-81.
33. Piñeiro-Vázquez, A.T., Canul-Solís, J.R., Alayón-Gamboa, J.A., Chay-Canul, A.J., Ayala-Burgos, A.J., Aguilar-Pérez, C.F., Solorio-Sánchez, F.J., Ku-Vera J.C. 2015. Potential of condensed tannins for the reduction of

- emissions of enteric methane and their effect on ruminant productivity, *Arch Med Vet* 47, 263-272.
34. Quiroz-Cardoso, F., Rojas-Hernández, S., Olivares-Pérez, J., Hernández-Castro, E., Jiménez-Guillén, R. Córdova-Izquierdo, A., Villa-Mancera, A., Abdel-Fattah, S. 2015. Composición nutricional, consumo e índices de palatabilidad relativa de los frutos de tres acacias en la alimentación de ovejas y cabras. *Archivos de Medicina Veterinaria*, vol. 47, núm. 1, pp. 33-38.
 35. Ramos, J. A., Mendoza, G. D., Aranda, E., Garcia-Bojalil, C., Barcena, R., Alanis, J. 1998. Escape protein supplementation of growing steers grazing stargrass.
 36. Rakhmani, S., Brooker, J.D., Jones, G.P., Palmer, B. 2005. Composition of condensed tannins from *Calliandra calothyrsus* and correlation with in sacco digestibility. *Ani. Feed Sci. and Technol.* 121 109–124.
 37. Ramírez-Restrepo, C.A., Barry, T.N., Pomroy, W.E., Lopez-Villalobos, N., McNabb, W.C., Kemp, P.D. 2005. Use of *Lotus corniculatus* containing condensed tannins to increase summer lamb growth under commercial dryland farming conditions with minimal anthelmintic drench input. *Ani. Feed Sci. and Technol.* 122 197–217.
 38. Rira, M., Morgavi, D.P., Archimede, H., Marie-Magdeleine, C., Popova, M., Bousseboua, H., Doreau, M. 2015. Potential of tannin-rich plants for modulating ruminal microbes and ruminal fermentation in sheep¹. *J. Anim. Sci.* 93:334–347.
 39. Sepúlveda Jiménez, G., Porta Ducoing, H., Rocha Sosa, M. 2003. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 21, núm. 3, diciembre, pp. 355-363.
 40. Sibaja-Hernandez, R. 2015. Propiedades fisicoquímicas y funcionales de las gomas de *Acacia farnesiana* Y *Acacia cochliacantha*. Tesis de Doctorado.
 41. Silanikove, N., Landau, S., Or, D., Kababya, D., Bruckental, I., Nitsan, Z. 2006. Analytical approach and effects of condensed tannins in carob pods

- (*Ceratonia siliqua*) on feed intake, digestive and metabolic responses of kids. *Livestock Science* 99 29 – 38.
42. Theodoridou, K., Aufrere, J., Andueza, D., Pourrat, J., Morvan, A.L., Stringano, E., Mueller-Harvey, I., Baumont, R. 2010. Effects of condensed tannins in fresh sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on in vivo and in situ digestion in sheep. *Ani. Feed Sci. and Technol.* 160 23–38.
43. Tesdeschi¹, L.O., Ramírez-Restrepo, C.A., Muir, J.P. 2014. Developing a conceptual model of possible benefits of condensed tannins for ruminant production. *Animal*, 8:7, pp 1095–1105.
44. Toral, G.P., Hervás, G., Bichi, E., Belenguer, A., Frutos, P. 2011. Tannins as feed additives to modulate ruminal biohydrogenation: Effects on animal performance, milk fatty acid composition and ruminal fermentation in dairy ewes fed a diet containing sunflower oil. *Ani. Feed Sci. and Technol.* 164, 199 206.
45. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch carbohydrates in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 583- 597.
46. Vasta, V., Mele, M., Serra, A., Scerra, M., Luciano, G., Lanza, M., Priolo, A. 2009. Metabolic fate of fatty acids involved in ruminal biohydrogenation in sheep fed concentrate or herbage with or without tannins. *J. Anim. Sci.* 87:2674–2684 doi:10.2527/jas.2008-1761.
47. Waghorn, G. 2008. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production—Progress and challenges. *Animal Feed Science and Technology* 147 (2008) 116–139.
48. Wischer, G., Boguhn, J., Steingäß, H., Schollenberger, M., Rodehutschord, M. 2013. Effects of different tannin-rich extracts and rapeseed tannin monomers on methane formation and microbial protein synthesis in vitro. *Animal*, 7:11, pp 1796–1805.