



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y GESTIÓN LOCAL

EVALUACIÓN DE DIETAS PARA CABRAS CON FRUTO DE
CASCALOTE (*Caesalpinia coriaria* (Jacq) Willd.) SOBRE
LA PRODUCCIÓN DE GAS *in vitro* Y SU IMPACTO SOBRE
LAS EMISIONES DE METANO”

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A:

ADELINA CAMPOS PEREZ

ASESORES DR. LUIS MIGUEL CAMACHO DÍAZ †
DR. ABDELFAH ZEIDAN MOHAMED SALEM
DR. MOISÉS CIPRIANO SALAZAR
DR. SAÚL ROJAS HERNÁNDEZ
DR. JAIME OLIVARES PÉREZ

IGUALA DE LA INDEPENDENCIA, GRO., DICIEMBRE DEL 2020

INDICE

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN:.....	2
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
IV. JUSTIFICACIÓN	4
V. OBJETIVO	5
GENERAL:	5
ESPECÍFICOS:.....	5
VI. HIPÓTESIS	6
VII. REVISIÓN DE LITERATURA	7
CASCALOTE (<i>Caesalpinia coriaria</i> (Jacq.) Willd.)	7
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	7
CARACTERÍSTICAS FENOLÓGICAS	7
TANINOS.....	9
CARACTERÍSTICAS DE LOS TANINOS	9
CLASIFICACIÓN DE LOS TANINOS	9
TANINOS HIDROLIZABLES.....	10
TANINOS CONDENSADOS.....	11
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS	13
UBICACIÓN DEL SITIO EXPERIMENTAL	13
RECOLECCIÓN DE FRUTOS DE CASCALOTE (<i>Caesalpinia coriaria</i> (Jacq.) Willd.)	14
INCUBACIONES <i>In vitro</i> Y ANIMALES.....	14
TRATAMIENTOS.....	14
PRODUCCIÓN TOTAL DE BIOGÁS, CH ₄ , CO ₂ Y H ₂	15

TÉCNICAS DE LABORATORIO	16
PREPARACIÓN DE LOS FRASCOS PARA FERMENTACIÓN <i>in vitro</i> (DÍA 1).	16
PREPARACIÓN DE SOLUCIONES (DÍA 2).	16
PREPARAR DEL MEDIO:	17
VARIABLES A ESTUDIAR.....	19
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	19
IX. RESULTADOS	21
X. DISCUSIÓN	29
XI. CONCLUSION	33
XII. LITERATURA CITADA.....	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación taxonómica de <i>Caesalpinia coriaria</i> (Jacq.) Willd.....	7
Tabla 2 Composición de dietas caprinas conteniendo diferentes niveles de taninos condensados del fruto de cascalote <i>Caesalpinia coriaria</i> (Jacq.) Willd.(%BS).	21
Tabla 3 Análisis bromatológico del fruto de cascalote (<i>C. coriaria</i> Jacq. Willd.) (% B.S.).....	22
Tabla 4 Análisis químico proximal de las dietas (%BS)	22
Tabla 5 Comportamiento de gases ruminales <i>in vitro</i> , metano, dióxido de carbono e hidrogeno (ml/g DM) de dietas con diferentes concentraciones de dietas con fruto de cascalote (<i>C. coriaria</i>).	25
Tabla 6. Producción <i>In vitro</i> de gases fraccionada de Metano, Dióxido de carbono e Hidrogeno (ml/g DM) de dietas con diferentes niveles de concentración de Taninos Condensados del fruto de Cascalote (<i>C. coriaria</i>)	28

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1** Producción total de biogás en el rumen (mL / g de MS incubada) de las cinco raciones mezcladas totales en presencia de taninos condensados (TC) de C. coriaria a 0 (TC0), 1.5 (TC1.5), 3.0 (TC3), 4.5 (TC4 .5) y 6.0 (TC6) % de la ración mixta total. SEM (Pool); = 2,784; P <0,001..... 23
- Figura 2** Producción total de metano (CH₄) en el rumen (mL / g de MS incubada) de las cinco raciones mezcladas totales en presencia de taninos condensados (TC) de C. coriaria a 0 (TC0), 1.5 (TC1.5), 3.0 (TC3), 4.5 (TC4 .5) y 6.0 (TC6) % de la ración mixta total. SEM (Pool), =2,784, P<0,001..... 24
- Figura 3** Producción total de Dióxido de carbono (CO₂) en el rumen (mL / g de MS incubada) de las cinco raciones mezcladas totales en presencia de taninos condensados (TC) de C. coriaria a 0 (TC0), 1.5 (TC1.5), 3.0 (TC3), 4.5 (TC4 .5) y 6.0 (TC6) % de la ración mixta total. SEM (Pool) = 2,784; P <0,001. 24
- Figura 4** Producción total de Hidrogeno (H₂) en el rumen (mL / g de MS incubada) de las cinco raciones mezcladas totales en presencia de taninos condensados (TC) de C. coriaria a 0 (TC0), 1.5 (TC1.5), 3.0 (TC3), 4.5 (TC4 .5) y 6.0 (TC6) % de la ración mixta total. SEM (Pool); = 2,784; P <0,001. 25

I. RESUMEN

El uso de frutos de árboles taniníferos representa una nueva tecnología que tiene como objetivo mitigar los efectos provocados por los gases de efecto invernadero, es decir, incrementar la producción de alimentos de origen animal para la población en armonía con el medio ambiente y la salud pública. Este estudio tiene como objetivo determinar la producción de metano, dióxido de carbono, degradabilidad y fermentación ruminal *in vitro* en dietas cabras suplementadas con fruto de Cascalote (*Caesalpinia coriaria* Jacq. Willd.) para su adopción por los agricultores a través de asociaciones ganaderas locales. Las tasas de inclusión de taninos condensados (TC) de *C. coriaria* fueron 0 (TC0 o control, sin TC), 1.5 (TC1.5), 3 (TC3), 4.5 (TC4.5) y 6% (TC6) del total de la ración. Toda la inclusión de CT se redujo (lineal, cuadrática y cúbica; $P = 0,001$) gas CH_4 , CO_2 y H_2 , pero tuvo algún efecto creciente y decreciente en la producción total de biogás. TC3 redujo GEI y tuvo la mayor producción de biogás. Por lo tanto, la adición de taninos del fruto de cascalote (*Caesalpinia coriaria* Jacq. Willd.) A dietas de cabras a nivel TC3 redujo la producción de metano, mejora la fermentación y degradabilidad ruminal *in vitro* y tiene potencial como alimento o aditivo alimentario ecológico. Es necesario realizar más experimentos *in vivo* para confirmar la eficacia.

Palabras clave: Degradabilidad, Metano, *Caesalpinia coriaria*, Medio ambiente, Cabras

II. INTRODUCCIÓN:

El proceso de producción de alimentos de origen animal es importante porque aporta nutrientes como proteína y energía para resolver el problema de desnutrición en la población, a nivel nacional, regional y local, sin embargo, las prácticas productivas para obtener los alimentos contribuyen a la contaminación ambiental por la generación de gases de efecto invernadero. Con el uso de frutos de árboles taniníferos como tecnología se pretende mitigar estos efectos. Uno de los gases de efecto invernadero de importancia es el metano (CH_4) que representan al menos el 14-15% del total de los gases con un potencial de calentamiento global de 23 a 25 veces más que el dióxido de carbono (CO_2) y una vida media en la atmósfera de 12 años (Andrade *et al.*, 2013; Wanapat *et al.* 2015). Además en el 2017 Mohammed *et al.*, hace mención a este como un subproducto natural del proceso digestivo de los rumiantes, donde las bacterias metanogénicas presentes en el rumen usan el H_2 (Hidrógeno) y CO_2 que se originan a partir de la fermentación microbiana de la fibra de las plantas, para formar metano y reducir la acumulación de H_2 en el rumen; Este gas de efecto invernadero no se usa por el animal como fuente de energía y se elimina a través de los pulmones o el eructo hacia la atmósfera (Crutzen *et al.*, 2006). De acuerdo a Hristov *et al.*, 2013, el sector agrícola tiene una contribución de 50 a 60% de emisión de metano y los rumiantes son la principal fuente de aporte de metano (15 a 33%), esta emisión causada por fermentación entérica de rumiantes representa una pérdida de consumo de energía (7% del total de la energía bruta ingerida) lo que se traduce en menos leche y carne por unidad de alimento consumido y así se afecta también la sustentabilidad económica del proceso productivo. El presente estudio pretende determinar la producción de metano, dióxido de carbono, la degradabilidad y fermentación ruminal *in vitro* en dietas para caprinos suplementadas con frutos de cascalote (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.) para su adopción por ganaderos a través de las asociaciones ganaderas locales.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la importancia del uso de taninos en dietas caprinas?

El uso de frutos de árboles taniníferos que contienen metabolitos secundarios (taninos condensados y saponinas) pueden elevar la producción de carne y leche pues también pueden disminuir compuestos cancerígenos en éstos productos, cuando son agregados en el alimento debido a que pueden proteger las proteínas de la dieta para ser asimiladas como aminoácidos en el intestino de los rumiantes promueven la síntesis de ácido linoleico conjugado (CLA) que tiene efectos benéficos para la salud por ser considerado como anticarcinogénico, antidiabético y con efectos moduladores de la inmunidad (Kathirvelan *et al.* 2008).

Por otra parte, algunos estudios han demostrado que los compuestos secundarios en el follaje y fruto de algunos árboles (extractos fenólicos) tienen relación con el nivel de producción de carne y leche debido a que estos microorganismos compiten por los nutrientes de la dieta y causan gastritis lo que altera la permeabilidad del epitelio y disminuye la absorción de nutrientes (León *et al.* 2016, Menke *et al.* 2017).

IV. JUSTIFICACIÓN

Los taninos son compuestos polifenólicos que se encuentran en muchas plantas dicotiledóneas, especialmente en leguminosas forrajeras de regiones templadas y tropicales. Son empleados por las plantas como mecanismo de defensa contra herbívoros y patógenos y para la conservación del nitrógeno.

Tiemann *et ál.* (2006) Evaluaron in vitro el efecto de diferentes concentraciones de taninos provenientes de cuatro leguminosas tropicales sobre la dinámica de la fermentación ruminal; observaron que los TC de *Calliandra calothyrsus* tuvieron un efecto más negativo sobre la fermentación que los de *Flemingia macrophylla* y *Leucaena leucocephala*, postulando que las diferencias de los efectos podían explicarse a partir de la composición química de los TC en estas leguminosas.

Sin embargo, el efecto benéfico de los taninos sobre la digestión de rumiantes está asociado a la cantidad de tanino consumido y a la composición química de los mismos pues existen oportunidades para reducir las emisiones de metano por unidad de materia seca consumida cuando las prácticas de manejo de las pasturas aumenten las tasas de pasaje y el consumo voluntario (Campos *et al.*, 2016).

V. OBJETIVO

GENERAL:

- Determinar *in vitro* la producción de metano, la fermentación y degradabilidad ruminal de dietas caprinas suplementadas con taninos del fruto de cascalote (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.)

ESPECÍFICOS:

- Obtener la composición química (AQP) de dietas caprinas conteniendo taninos del fruto de cascalote (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.).
- Caracterizar la cinética de fermentación ruminal mediante la producción de gas *in vitro* a las 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64, 72, 80, 88 y 96 horas de dietas caprinas conteniendo taninos del fruto de cascalote (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.).
- Calcular la energía metabolizable (EM) y el Factor de partición (FP) de dietas caprinas conteniendo taninos del fruto de cascalote (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.).
- Calcular la degradabilidad *in vitro* de la Materia seca (MS) Materia orgánica (MO), Fibra detergente neutro (FDN, Fibra detergente ácido (FDA), Proteína cruda (PC), Extracto etéreo (EE) y cenizas de dietas caprinas conteniendo taninos del fruto de cascalote (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.).
- Cuantificar la producción *in vitro* de metano y dióxido de carbono de dietas caprinas conteniendo taninos del fruto de cascalote (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.).

VI. HIPÓTESIS

La adición de taninos del fruto de cascalote (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.) a dietas caprinas reducirá la producción de metano, mejorará la fermentación y degradabilidad ruminal *in vitro*.

VII. REVISIÓN DE LITERATURA

CASCALOTE (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.)

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Tabla 1 Clasificación taxonómica de *Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.



Cascalote	
Taxonomía	
Reino:	<i>Plantae</i>
Subreino:	<i>Tracheobionta</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden:	<i>Fabales</i>
Familia:	<i>Fabaceae</i>
Subfamilia:	<i>Caesalpinioideae</i>
Tribu:	<i>Caesalpinieae</i>
Genero:	<i>Caesalpinia</i>
Especie:	<i>Caesalpinia coriaria</i>

Fuente: Árboles de Centroamérica IRENA (1992)

CARACTERÍSTICAS FENOLÓGICAS

Caesalpinia coriaria (Jacq Willd). "Cascalote"

Este árbol de la familia de las leguminosas es una especie común y bien conocida en muchas partes del mundo, pertenece al grupo de las *leguminosae*, su sinónimo popular es “torcido como oreja”. (Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana, 2009). La distribución natural se extiende en clima cálido desde los 550 y los 1000 msnm y se encuentra asociado a bosque tropical caducifolio y bosque espinoso. (IRENA, 1992; puede alcanzar una altura de 3 metros, sus hojas son bipinadas con numerosas hojuelas, que tiene glándulas puntiagudas; las flores le crecen en racimos amarillentos; los frutos son vainas de 6 cm aproximadamente, aplanadas y torcidas; son ricos en tanino hasta un 50%, que se utiliza para curtir pieles y en medicina como astringente (INAFOR, 2002).



Las vainas producen colorantes negro, azul y rojo de estructura no determinada (Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana, 2009).

Sus hojas multipropósito son importantes recursos de alimentación para la producción de pequeños rumiantes en países especialmente para los agricultores sin tierra y marginales. En estas regiones, las fuentes de recursos convencionales son limitadas y, a menudo, demasiado caras para el sistema de producción pecuaria de bajos insumos y productos. Además contienen niveles moderados de proteína cruda (PC), minerales y vitaminas que son deficientes en muchos forrajes de baja calidad (Pal *et al.*, 2015).

La incorporación de leguminosas en una dieta basada en gramíneas ha resultado en aumentos en la productividad animal y en el mejoramiento del balance de N en sistemas pastoriles; El impacto de las leguminosas y de las diferencias entre especies forrajeras sobre la producción de metano ha sido poco por otra parte los estudios *in vitro* suministran información preliminar acerca de estos recursos y su potencial producción de metano en la fermentación entérica (Vargas, 2014).

TANINOS

CARACTERÍSTICAS DE LOS TANINOS

Los taninos son sustancias ampliamente distribuidas en las plantas, estando a menudo presentes en la dieta de los herbívoros. Los dos principales grupos polifenólicos son los taninos condensados y los taninos hidrolizables, los cuales pueden tener efectos antinutricionales/tóxicos o benéficos para los animales (Marquez y Suarez, 2008).

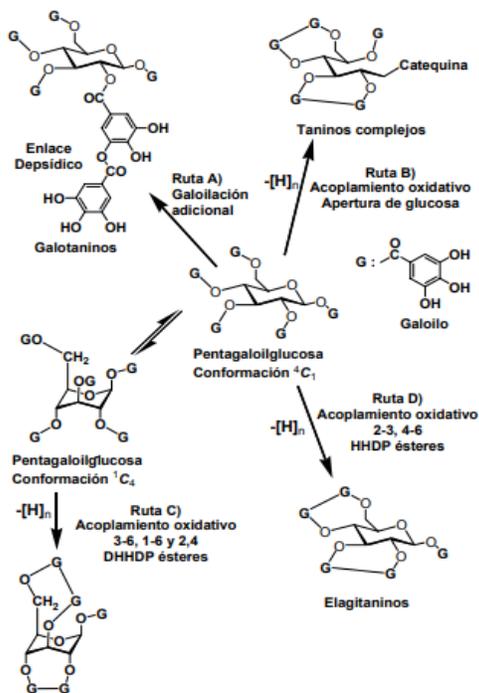
Los taninos de alto peso molecular formar complejos fuertes con proteínas y otras macromoléculas bajo condiciones particulares, todos son compuestos fenólicos y pueden precipitar las proteínas. La capacidad de unir proteínas por los taninos (astringencia) se ha considerado como un elemento importante para prever sus efectos en sistemas biológicos. La afinidad de los taninos por las proteínas varía dependiendo de sus características y las condiciones físico-químicas del sistema (Carulla, 2005).

CLASIFICACIÓN DE LOS TANINOS

Existen dos grupos: 1) Los taninos hidrolizables y 2) Los taninos condensados. Los taninos hidrolizables dan productos solubles en el agua por hidrólisis con un ácido inorgánico diluido e hirviendo. Los taninos condensados son los extractos curtientes más importantes y se presentan generalmente en la madera, la corteza y las raíces de las plantas (Aguilar, 2004, Carulla, 2005).

TANINOS HIDROLIZABLES

Este grupo ha tenido un espectacular avance en química y bioquímica desde 1989 con los trabajos de los grupos de Haslam, Okuda y Yoshida, de manera que hoy se han elucidado las estructuras de más de 750 nuevos taninos hidrolizables. Todos ellos son ésteres de ácidos fenólicos (ácido gálico y elágico) con un azúcar (generalmente glucosa) o un polialcohol. Todos ellos derivan su parte fenólica por la vía shikímica a partir de la forma Fenol del ácido 3-dehidroshikímico, el cual se transforma en el precursor, ácido gálico, por acción de la enzima dehidroshikimato deshidrogenada. La porción de glucosa la proporciona el UDP-glucosa para producir la primera esterificación sobre el carbono anomérico que produce el donador de acilo, -glucogalin; el cual conduce secuencialmente a las 1,6-di-, 1,2,6-tri-, 1,2,3,6- tetra- y 1,2,3,4,6-pentagaloilglucosas, en su conformación más estable 4C_1 , conformando el subgrupo de los ésteres simples. A partir de éstos, se derivan tanto los gallotaninos como los elagitaninos, mediante cuatro rutas biogénicas principales: A) Galoilaciones adicionales hasta 10 u 11 residuos galóilo, que producen los galotaninos o ácido tánico, caracterizados por la presencia de uno o más enlaces m-digaloil depsídicos, como se ilustra en la estructura hexagaloilglucosa, 2-Odigaloil-1,3,4,6-tetra-O galol- β -D-glucopiranososa; B) Acoplamiento oxidativo con apertura de la glucosa y condensación con flavan-3-oles, para dar los taninos complejos, C) Inversión de la configuración de la glucosa, seguida de acoplamiento oxidativo para dar los ésteres DHHDP de 1 C₄ glucopiranososa y D) Acoplamiento oxidativo C-C para producir los éteres HHDP de 4 C₁ glucopiranososa, seguido de acoplamiento oxidativo C-O que produce los elagitaninos oligoméricos (Hipólito, 2007).



La ruta D, por acoplamiento oxidativo C-C de dos unidades galoilo vecinas, se producen las unidades hexahidroxidifenoilo (HHDP) entre las posiciones 2-3 y/o 4-6 para producir las dos familias de elagitaninos monoméricos, la del casuarictin (1), pedunculagin (2), strictinin (3) e isostrictinin y de otra parte la del pterocaryanin (4), praecoxin (5) y 1,4,6-trigaloil-β-Dglucopiranososa (6). Por acoplamiento oxidativo C-O entre monómeros alternativos de cada familia, se producen los elagitaninos oligoméricos dímeros, nobotanin B (7), G (8), O (9),

malabatrín C (10) y nobotanin H (11) junto con otros di- a tetrámeros, nobotaninos A-W y la nueva serie de pentámeros, melastoflorinos A-D, cuya masa molecular relativa alcanza los 4526 Da. En todos estos la conformación de la glucosa es la más estable ⁴C₁ (Hipólito, 2007).

Estos compuestos pueden ser separados en sus productos por hidrólisis, con ácidos o reacciones enzimáticas (García, 2004; Márquez, 2008). Los TH son potencialmente tóxicos para los rumiantes ya que son degradados por los microorganismos del rumen y absorbidos en forma de pyrogallol, una toxina con efecto tanto hepatotóxico como nefrotóxico (Ramírez, 2008; Pérez, 1997). Se dice que los TH son responsables de la mayoría de los efectos nocivos, hasta ocasionar la muerte (Torres *et al.*, 2008).

TANINOS CONDENSADOS

Los TC son polímeros fenólicos y en su mayoría constituyen potentes antioxidantes que tiene la capacidad de modificar la fermentación ruminal por inhibición de la producción de amoníaco y metano, parcialmente por su habilidad para formar

complejos con las proteínas y la fibra de la dieta. Con relación al metabolismo de los lípidos, los taninos han provocado inhibición de la bacteria *Butyrivibrio fibrisolvens*, una de las principales especies bacterianas involucradas en la biohidrogenación ruminal (Camacho *et al.*, 2015). Además por su capacidad de formar compuestos antes mencionados a concentraciones de 6 a 10% de la MS, deprimen el consumo y la palatabilidad voluntario de los animales que le consumen, estos efectos parecen estar más sujetos al propio funcionamiento del rumen y del intestino. Los TC parecen reducir la tasa de fermentación provocando efectos sobre el llenado del rumen (Waghorn *et al.*, 1994). También reducen la digestibilidad, de la materia seca, materia orgánica, fibra, proteína, y de los carbohidratos y por consiguiente afectan negativamente el desempeño productivo de los animales (Reed *et al.*, 1995).

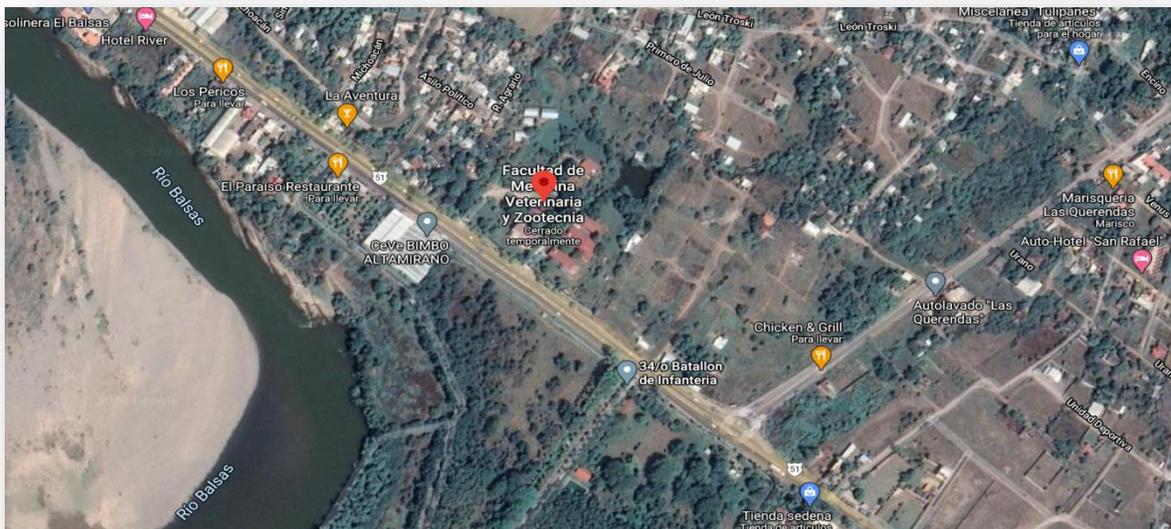
Los taninos condensados en la alimentación caprina es notable el efecto que tiene sobre los protozoarios, ya que Wang *et al.* (1996), observaron el efecto contrario cuando usaron el género *Lotus* y el efecto sobre las bacterias ruminales, como ocurre con el *Fibrobacter succinogenes* que puede separarse de la fibra (substrato) como ocurrió en experimentos con trébol pata de pájaro.

Por otra parte el uso de los taninos condensados del fruto de cascalote *C. coriaria* también es empleada por locatarios para el curtido de pieles.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

UBICACIÓN DEL SITIO EXPERIMENTAL

El experimento se realizó en la posta zootécnica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia número 1 de la Universidad Autónoma de Guerrero (UAGro), ubicada en Ciudad Altamirano, región Tierra Caliente del estado de Guerrero, se halla a 250 metros sobre el nivel del mar, al noroeste de Chilpancingo, entre los paralelos 18°25" de latitud norte y los 100°31" y 100°43" de longitud oeste, respecto del meridiano de Greenwich. Colinda al norte con el estado de Michoacán y Cutzamala de Pinzón; al sur con Tlapehuala, Ajuchitlán y Coyuca de Catalán; al oeste con Coyuca de Catalán: y al este con Tlapehuala; El clima es considerado como trópico sub húmedo, con temperaturas que oscilan entre los 43.2 °C máximas y los 28 °C mínimas, con una precipitación pluvial de 1,100 milímetros (INEGI, 2009).



RECOLECCIÓN DE FRUTOS DE CASCALOTE (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.)

Se colectaron frutos maduros de cascalote durante la época de cosecha (febrero-marzo) directamente del árbol a una altura de 1.5 m simulando el pastoreo de los caprinos, se obtuvieron las muestras que se secaron a la sombra y se molieron en un molino Willey con una criba de 0.5 mm para su uso como sustrato en las dietas, las cuales se analizarán para AQP (AOAC, 1997).

INCUBACIONES *In vitro* Y ANIMALES

Como fuente de inóculo (líquido ruminal) se utilizaron cuatro caprinos (25 ± 5 kg de peso vivo) previamente vacunados (Ultrabac 8®, SmithKline Beechman) desparasitados (Ivomec Plus® Merck, Rahawy, NJ) y vitaminados (Synt-ADE) y alimentados con la dieta balanceada basada en 40:60 Forraje: Concentrado alimentaron con una dieta para cabras según el Consejo Nacional de Investigación (NRC, 2007). A las cabras se les proporcionó agua fresca durante la fase de recolección del inóculo y posteriormente, el contenido ruminal se enjuagó con CO₂ y se filtró con gasa en un frasco con espacio libre de oxígeno. El fluido ruminal recolectado se mezcló con una solución tampón (1: 4 v / v) (Goering y Van Soest, 1970) y luego se diluyó y se añadió a botellas de incubación que contenían 1 g de sustratos de MS prepesados y soluciones de aditivos. Se realizaron tres ciclos de incubación en tres semanas. Los frascos que contenían las muestras (cinco niveles de TC en la dieta de *C. coriaria* (0, 1.5, 3.0, 4.5 y 6% de TC de la MS de la dieta x tres ciclos diferentes) más tres frascos como blancos (solo líquido ruminal) se incubaron durante 96 h.

TRATAMIENTOS

TC0= Dieta base (40% de rastrojo de maíz y 60% de un concentrado a base de maíz molido, pasta de soya, melaza, urea y pre mezcla de vitaminas y minerales).

TC1.5= Dieta base + 1.5% de taninos condensados presentes en el fruto del cascalote (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.) sobre la materia seca total.

T3 Dieta base + 3.0% de taninos condensados presentes en el fruto del cascalote (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.) sobre la materia seca total.

TC4.5= Dieta base + 4.5% de taninos condensados presentes en el fruto del cascalote (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.) sobre la materia seca total.

TC6= Dieta base + 6% de taninos condensados presentes en el fruto del cascalote (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.) sobre la materia seca total.



PRODUCCIÓN TOTAL DE BIOGÁS, CH₄, CO₂ Y H₂

Se realizaron tres réplicas en sustratos que contenían botellas. Los frascos se llenaron, se cerraron con tapones de goma, se mezclaron y se incubaron a 39 ° C en baño de agua. El volumen de producción de biogás (GP) se estimó hasta 96 h (2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 96 h) utilizando un transductor de presión (Extech Instruments, Waltham, EE.UU.) según la metodología de Theodorou *et al.* (1994). Además, la cantidad de CH₄, CO₂ y H₂ se estimó en los mismos momentos de incubación mediante un detector de gas (Monitor de calidad del aire YesAIR, Critical Environment Technologies Canadá Inc., Delta, BC, V4G 1M3, Canadá). El pH se midió a las 72 h utilizando un medidor de pH digital (Conductronic pH15.0, Puebla, México).

TÉCNICAS DE LABORATORIO

PREPARACIÓN DE LOS FRASCOS PARA FERMENTACIÓN *in vitro* (DÍA 1).

1. Se rotularon los frascos previamente secos y las bolsitas filtro de acuerdo a cada tratamiento y repetición.
2. Se pesó un gramo de cada ración dentro de una bolsita filtro previamente secada y desengrasada.
3. Se selló la bolsita con sellador caliente para evitar se pierda la muestra. Esto se hizo con los 5 tratamientos y 4 repeticiones.
4. Se colocaron dentro de cada frasco y se sellaron herméticamente.
5. Se colocaron dentro a una estufa de ventilación forzada con rango de 0 a 200 grados, a una temperatura controlada y constante de 39°C.

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES (DÍA 2).

MEDIOS *Theodorou*

1. SOLUCIÓN MICROMINERAL (g por 5 ml).

CaCl ₂ .2H ₂ O (Cloruro de Calcio deshidratado)	0.675
MnCl ₂ .4H ₂ O (Cloruro de Magnesio tetrahidratado)	0.500
CoCl ₂ .6H ₂ O (Cloruro de Cobalto hexahidratado)	0.08
FeCl ₃ .6H ₂ O (Cloruro Férrico hexahidratado)	0.04

2. SOLUCIÓN TAMPÓN (g por 300 ml).

NH ₄ HCO ₃ (Bicarbonato de Amonio)	2.4
NaHCO ₃ (Bicarbonato de Sodio)	21

3. SOLUCIÓN MACROMINERAL (g por 300 ml).

Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O (Sulfato disódico)	5.67
---	------

KH ₂ PO ₄ (Fosfato monopotásico)	3.72
MgSO ₄ .7H ₂ O (Sulfato de Magnesio)	0.36

4. SOLUCIÓN DE RESAZURINA. (g por 5 ml)

Resazurina	0.005
------------	-------

AGENTE REDUCTOR DE THEODOROU

HCl.1 H ₂ O (Cisteína)	1.875 mg
Agua destilada	285 ml
1 N NaOH	12 ml
Na ₂ S/9H ₂ O (Sulfuro de sodio nonahidratado)	1.875 mg.

PREPARAR DEL MEDIO:

Mezcle las soluciones componentes en las siguientes cantidades para obtener aproximadamente 2.5 l de medio.

1. Microminerales	0.3 ml
2. Solución Tampón	600 ml
3. Macrominerales	600 ml
4. Resazurina	3 ml
5. Agua destilada	1500 ml

El medio se debe mantener en constante mezclado y con el CO₂ burbujeando a través de él aproximadamente durante 2 a 3 horas, luego agregue un pequeño volumen de agente reductor (aproximadamente 2 ml por litro de tampón; 3 ml para el medio de Menke). Se Continúa gaseando hasta que la resazurina en el medio esté rosada.

Coloque las muestras dentro de las botellas (día 3).

Se debe preparar una cantidad adecuada de agente reductor en el medio, manteniéndolo agitado y bajo una atmósfera de nitrógeno. Usando un embudo pequeño de gran diámetro, transfiera los sustratos a sus botellas y agregue 4 ml de agente reductor. Sigue gaseando con CO₂. Vuelva a sellar con tapones de goma de butilo y engarce con tapas de aluminio. Vuelva a colocar en la estufa a 39 ° C.

Preparar inóculo (300 ml de líquido ruminal).

Se recolecta un pool de líquido ruminal de los cuatro donantes a partir de las 8:00 a.m. y se mantuvo caliente en un matraz dentro de un termo aproximadamente a 39°C. El fluido se filtra a través de 4 capas de muselina de algodón y se coloca bajo una atmósfera de CO₂. Se mantiene el líquido agitado (no vigorosamente). Tenga en cuenta el volumen aproximado de líquido filtrado. Transfiera los sólidos a una licuadora y agregue un volumen de medio (usando las botellas de repuesto preparadas anteriormente) aproximadamente igual al volumen del líquido filtrado. Mezcle durante aproximadamente 30 segundos y filtre a través de la muselina en el vaso de precipitados con líquido filtrado para unir con el fluido original filtrado del rumen. Mantener agitado y bajo CO₂. El inóculo ya está listo para su uso.

Inoculación de botellas

Mientras se prepara el inóculo, las botellas de suero deben ajustarse a la presión atmosférica. Esto se realiza mediante el procedimiento de "toma de lecturas de gas" y las botellas se devuelven a la incubadora a 39 ° C.

Usando una jeringa de 5 ml y agujas de calibre 22 G x 32 ml (22 G x 1^{1/4}" (código de color negro), se inyecta 10 ml de líquido ruminal a cada frasco, más 90 ml del medio. Agite las botellas y regrese a la estufa.

A partir de las 10 a.m., las botellas se reajustan a la presión atmosférica, se agitan y se devuelven a la incubadora. Esto se toma como el punto de partida (tiempo = 0) del experimento.

Determinación de la desaparición de materia seca (DMD)

Al final de la producción de gas, lave la botella con agua para eliminar los residuos. Seque las bolsas filtro en la estufa por 16 horas a 105 ° C y luego deje que se enfríe en el desecador y pese.

VARIABLES A ESTUDIAR

- ❖ Análisis químico proximal de las dietas (MS, PC, ELN, EE y Cenizas) (AOAC, 1997) y Fibras (FDN y FDA) según Van I. *et al.* (1991).
- ❖ Producción de gas *in vitro* a las 2,4,6,12,24,48 y 72 h mediante la técnica de Theodorou, *et al.*, 1994, para calcular la cinética de fermentación.
- ❖ Energía metabolizable y Factor de partición (Menke y Steingass, 1988)
- ❖ Degradabilidad *in vitro* de la MS, MO, PC, EE, Cenizas (AOAC, 1997) y FDN y FDA (Van Soest, *et al.*, 1991) analizando los sustratos iniciales y residuales después de 72 h de incubación.
- ❖ Producción de metano *in vitro*. (Kholif *et al.*, 2017)

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño completamente al azar con cinco tratamientos y tre repeticiones, (frascos para fermentación *in vitro*) para cada tratamiento de acuerdo al siguiente modelo:

Modelo estadístico: $Y_{ij} = \mu + T_i + \xi_{ij}$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta del tratamiento i, repetición j.

μ = Media general.

T_i = Efecto del tratamiento i .

ξ_{ij} = Error aleatorio.

Se realizó un análisis de varianza con el paquete estadístico SAS versión (9.0). Para comparar las diferencias entre las medias de tratamientos se aplicó la prueba de Tukey (Steel y Torrie, 1988).

IX. RESULTADOS

Para la realización de la prueba de medición de gases es necesario conocer la composición química proximal de las dietas utilizadas; en tabla dos se especifican los porcentajes de inclusión de los tratamientos.

*Tabla 2 Composición de dietas caprinas conteniendo diferentes niveles de taninos condensados del fruto de cascalote *Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd. (%BS).*

INGREDIENTES	% DE INCLUSIÓN				
	TC0	TC1.5	TC3	T4.5	TC6
Heno de Avena	46.79	46.94	47.09	47.24	47.3
Maíz molido	27.95	22.38	16.83	11.33	6.8
Pasta de Soya	12.64	13.24	13.84	14.43	14.9
Melaza	7.17	7.2	7.22	7.24	7.24
Fruto de cascalote	0	4.58	9.13	13.65	17.6
Aceite de girasol	3.17	3.18	3.19	3.2	3.21
Carbona de calcio	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14
Urea	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91
*Mezcla vit- minerales	0.22	0.42	0.65	0.86	0.9
Total	100	100	100	100	100

*Mezcla vit-minerales: Cloruro de sodio, carbonato de calcio, sulfato de magnesio, sulfato de hierro, sulfato de zinc, selenio de sodio, Vitamina A, Vitamina D3, Vitamina E, Vitamina B1, yodo 130 ppm, subproductos de cereales. * %BS = % Base seca; raciones mezcladas totales en presencia de taninos condensados (TC) de *C. coriaria* a 0 (TC0), 1.5 (TC1.5), 3.0 (TC3), 4.5 (TC4 .5) y 6.0 (TC6) % de la ración mixta total.

En la tabla tres se reflejan los resultados del análisis bromatológico del fruto de cascalote (*Caesalpinia coriaria* Jacq. Willd.)

Tabla 3 Análisis bromatológico del fruto de cascalote (*C. coriaria* Jacq. Willd.) (% B.S.)

Componente	Contenido
Proteína	8.14
MS	99.60
Cenizas	0.10
E.E	2.17
TCL	22.71
TCLP	3.17
TCLF	7.18
TCT	33.06

M.S= Materia seca; E.E= Extracto etéreo; TCL= Taninos condensados libres; TCLP= Taninos condensados ligados a proteínas; TCF= Taninos condensados ligados a fibras y TCT= Taninos condensados totales.

Datos que tienen similitud con los obtenidos por Mora *et al.* (2018), donde reporta taninos condensados totales para el fruto de *C. coriaria* de 35.5%; en cuanto a la proteína obtenida en su estudio reporta un porcentaje de 4.84, este menor al obtenido en este trabajo, así mismo con la Materia seca reportada en 97%; A continuación en la tabla cuatro se expresan los resultados del análisis bromatológico de las dietas.

Tabla 4 Análisis químico proximal de las dietas (%BS)

COMPONENTE	TRATAMIENTOS				
	TC0	TC1.5	TC3	T4.5	TC6
M.S.	91.75	96.68	93.1	93.17	92.96
P.C.	17.06	16.01	14.88	15.49	15.14
E.E	5.97	6.85	7.44	2.38	2.42
Cenizas	0.32	0.27	0.3	0.27	0.31
FDN	38.31	38.44	36.56	38.69	38.77

EM, Mcal/kg 2.4 2.25 2.09 1.9 1.81

M.S= Materia seca; P.C= Proteína cruda; E.E= Extracto etéreo; FDN= Fibra detergente neutra; EM, Mcal/kg= Energía metabolizable expresada en megacalorías por kilogramo, raciones mezcladas totales en presencia de taninos condensados (TC) de *C. coriaria* a 0 (TC0), 1.5 (TC1.5), 3.0 (TC3), 4.5 (TC4 .5) y 6.0 (TC6) % de la ración mixta total.

Producción total de biogás, metano, dióxido de carbono e hidrógeno.

Las figuras muestran las tendencias del biogás total de rumen in vitro (Figura 1), metano (Figura 2), CO₂ (Figura 3) y H₂ (Figura 4) en el nivel graduado de *C. coriaria* TC. La producción total de gas mostró que el control tuvo la producción más alta mientras que TC 4.5 produjo el gas más bajo. Entre los gases de efecto invernadero, TC1.5 tuvo la mayor producción de metano e hidrógeno, mientras que TC0 produjo la mayor cantidad de CO₂, mientras que TC6 tuvo la menor producción de gases de efecto invernadero.

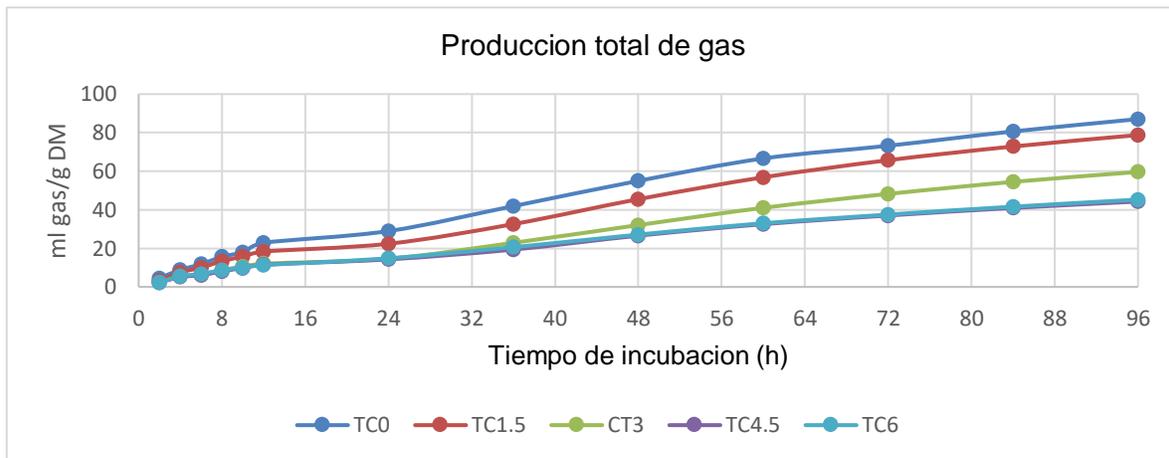


Figura 1 Producción total de biogás en el rumen (mL / g de MS incubada) de las cinco raciones mezcladas totales en presencia de taninos condensados (TC) de *C. coriaria* a 0 (TC0), 1.5 (TC1.5), 3.0 (TC3), 4.5 (TC4 .5) y 6.0 (TC6) % de la ración mixta total. SEM (Pool); = 2,784; P <0,001..

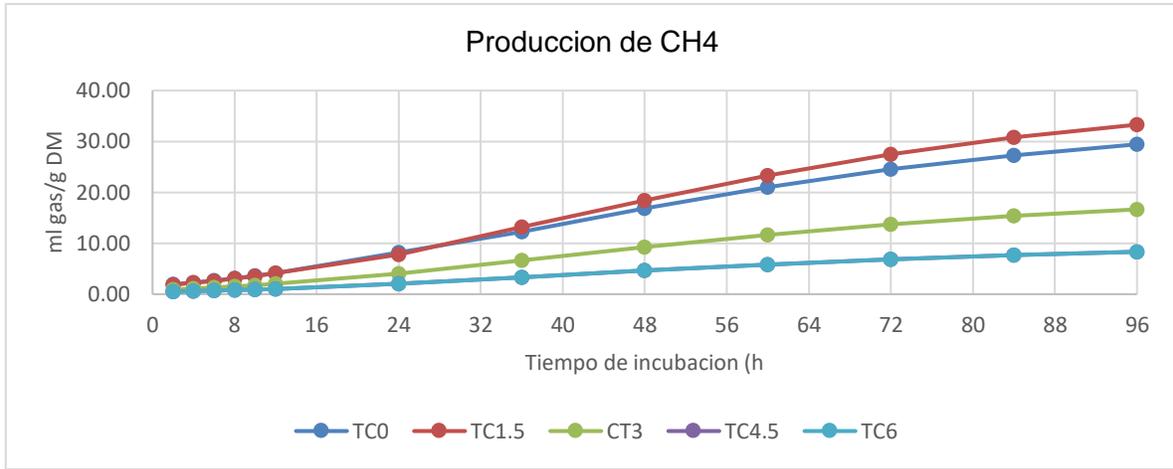


Figura 2 Producción total de metano (CH₄) en el rumen (mL / g de MS incubada) de las cinco raciones mezcladas totales en presencia de taninos condensados (TC) de *C. coriaria* a 0 (TC0), 1.5 (TC1.5), 3.0 (TC3), 4.5 (TC4.5) y 6.0 (TC6) % de la ración mixta total. SEM (Poold), =2,784, P<0,001.

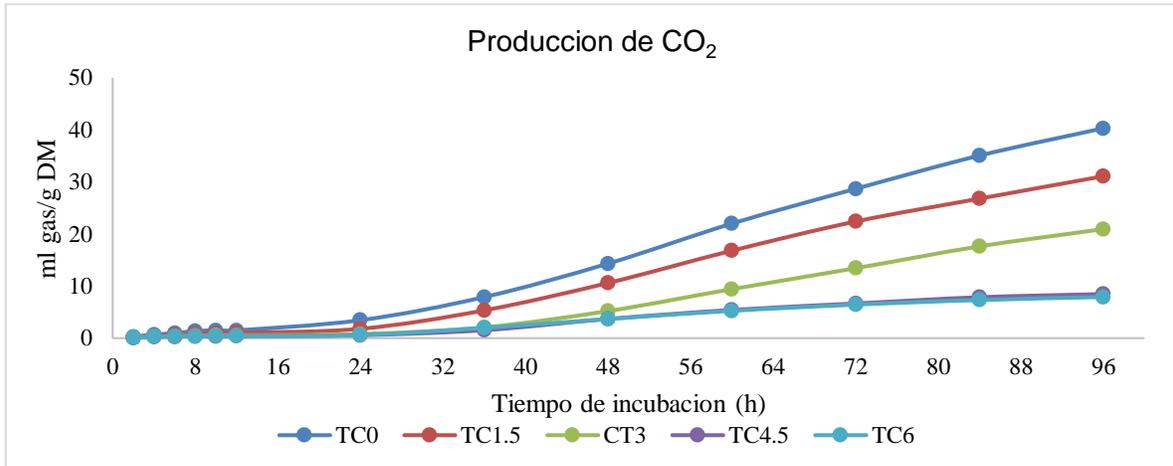


Figura 3 Producción total de Dióxido de carbono (CO₂) en el rumen (mL / g de MS incubada) de las cinco raciones mezcladas totales en presencia de taninos condensados (TC) de *C. coriaria* a 0 (TC0), 1.5 (TC1.5), 3.0 (TC3), 4.5 (TC4.5) y 6.0 (TC6) % de la ración mixta total. SEM (Poold) = 2,784; P <0,001.

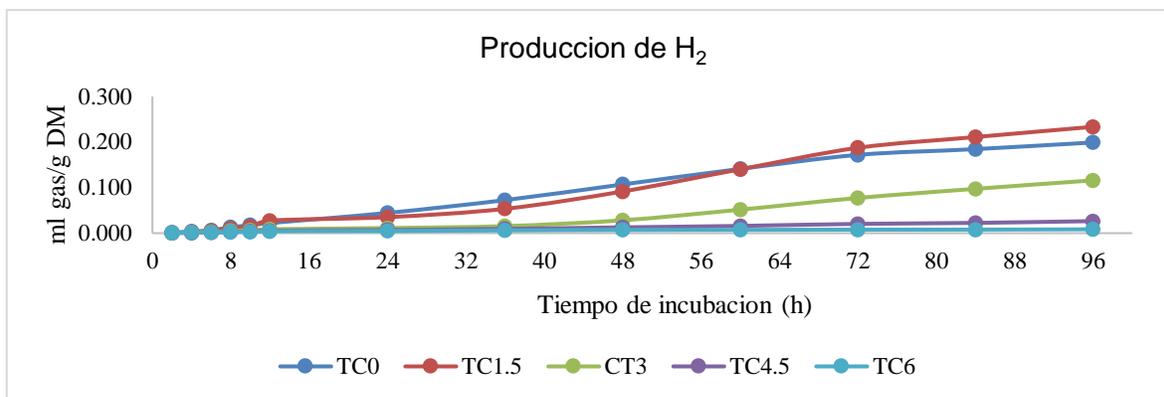


Figura 4 Producción total de Hidrogeno (H₂) en el rumen (mL / g de MS incubada) de las cinco raciones mezcladas totales en presencia de taninos condensados (TC) de *C. coriaria* a 0 (TC0), 1.5 (TC1.5), 3.0 (TC3), 4.5 (TC4.5) y 6.0 (TC6) % de la ración mixta total. SEM (Pool); = 2,784; P <0,001.

En la tabla cinco muestra la influencia del tratamiento (P = 0.001), el tiempo (P = 0.001) y la interacción tratamiento x tiempo (P = 0.001) en varios parámetros de producción de gas. En todos los tratamientos (TC0, TC1.5, TC3.0, 210 TC4.5 y TC6.0) hubo una disminución lineal (P = 0.001) en la producción total de biogás. Además, entre los gases de efecto invernadero (CH₄, CO₂) y H₂, disminuyó linealmente (P = 0,001) a través de los tratamientos con excepción de CT1.5 donde aumentó. El resultado de la hora (Tabla 5) mostró que la producción total de biogás, CH₄, CO₂ y H₂ aumentó linealmente (P = 0.001) a las 8 h, 24 h, 48 h, 72 h y 96 h en el experimento. Lo que sugiere que en cada hora de medición se produjeron cada vez más todos los gases. La interacción tratamiento x horas mostró que la producción de 8 h y 96 h de (biogás total, CH₄, CO₂ y H₂) fue la más baja y la más alta (P = 0,001) respectivamente para cada tratamiento, y la producción de gases aumentó linealmente (P = 0,001).

Tabla 5 Comportamiento de gases ruminales in vitro, metano, dióxido de carbono e hidrogeno (ml/g DM) de dietas con diferentes concentraciones de dietas con fruto de cascalote (*C. coriaria*).

TRATAMIENTO	HORA	GAS			
		TOTAL	CH ₄	CO ₂	H ₂
TC0	8	15.63	2.97	1.36	0.01
	24	28.95	6.77	3.45	0.04
	48	54.98	14.44	14.32	0.11
	72	73.20	24.34	28.67	0.17

	96	87.03	29.36	40.30	0.20
	SEM	13.30	5.02	7.46	0.04
	VALOR P:				
	LINEAL	0.000	0.001	0.001	0.001
	CUADRÁTICO	0.206	0.948	0.136	0.743
	CUBICO	0.774	0.815	0.329	0.684
TC1.5	8	13.37	1.60	0.90	0.01
	24	22.38	3.37	1.79	0.04
	48	45.50	9.88	10.59	0.09
	72	65.71	28.99	22.40	0.19
	96	78.77	40.11	31.08	0.23
	SEM	12.4	7.6	5.9	0.043
	VALOR P:				
	LINEAL	0.001	0.001	0.001	0.001
	CUADRÁTICO	0.163	0.036	0.001	0.470
	CUBICO	0.218	0.260	0.002	0.212
TC3	8	8.61	0.94	0.47	0.00
	24	14.63	1.53	0.79	0.01
	48	32.06	3.78	5.20	0.03
	72	48.23	13.11	13.43	0.08
	96	59.64	22.78	20.94	0.12
	SEM	9.7	4.2	4.0	0.021
	VALOR P:				
	LINEAL	0.001	0.001	0.001	0.001
	CUADRÁTICO	0.904	0.003	0.019	0.011
	CUBICO	0.184	0.847	0.422	0.494
TC4.5	8	8.13	0.57	0.37	0.00
	24	14.29	1.30	0.57	0.01
	48	26.57	2.66	3.69	0.01
	72	37.04	3.89	6.65	0.02
	96	44.28	5.26	8.47	0.03
	SEM	6.8	0.8	1.6	0.004
	VALOR P:				
	LINEAL	0.001	0.001	0.001	0.001
	CUADRÁTICO	0.050	0.805	0.551	0.894
	CUBICO	0.092	0.951	0.005	0.875

TC6	8	8.71	0.59	0.37	0.00
	24	14.85	1.11	0.61	0.00
	48	27.14	2.32	3.67	0.01
	72	37.52	3.29	6.43	0.01
	96	45.28	4.42	7.90	0.01
	SEM	6.8	0.7	1.5	0.001
VALOR P:					
	LINEAL	0.001	0.001	0.003	0.002
	CUADRÁTICO	0.011	0.728	0.001	0.089
	CUBICO	0.188	0.834	0.001	0.231
SEM (POOLD)					
		5.1	2.3	2.1	0.015
VALOR P:					
	LINEAL	0.001	0.001	0.001	0.001
	CUADRÁTICO	0.404	0.905	0.369	0.001
	CUBICO	0.771	0.131	0.186	0.095
Hora:					
	LINEAL	0.001	0.001	0.001	0.001
	CUADRÁTICO	0.307	0.251	0.098	0.771
	CUBICO	0.702	0.601	0.230	0.553
Tratamiento X					
	Hora	0.001	0.001	0.001	0.001

Tratamientos con presencia de taninos condensados (TC) de *C. coriaria*= 0 (TC0), 1.5 (TC1.5), 3.0 (TC3), 4.5 (TC4.5) y 6.0 (TC6) % de la ración mixta total; CH₄= Metano, CO₂= Dióxido de carbono y H₂= Hidrogeno.

Fraciones de producción de biogás, metano, dióxido de carbono e hidrógeno

La Tabla 6 muestra el impacto del tratamiento en la producción de gas asintomático, la tasa y el tiempo de retraso para la producción de gas. El resultado mostró que los tratamientos (TC0, TC1.5, TC3.0, TC4.5, TC6) tuvieron (lineal, cuadrático y cúbico; P = 0.001) sobre la producción de gas asintomático de biogases totales, CH₄, CO₂ y H₂. La producción total de biogás aumentó (P = 0.001) excepto en TC4.5 y TC6 donde disminuyó mientras que la tasa de producción de gas linealmente (P = 0.001) disminuyó con dosis crecientes de TC. Los gases CH₄ y H₂ disminuyen linealmente

(P = 0,001) al aumentar la concentración de TC, sin embargo, TC1.5 tuvo la mayor producción asintomática de CH₄ y H₂. Además, el CO₂ disminuyó (P = 0,001) de una manera dependiente de la dosis de inclusión de TC

Tabla 6. Producción In vitro de gases fraccionada de Metano, Dióxido de carbono e Hidrogeno (ml/g DM) de dietas con diferentes niveles de concentración de Taninos Condensados del fruto de Cascalote (*C. coriaria*)

TRATAMIENTO	PRODUCCIÓN DE GAS			METANO (CH ₄)			DÍOXIDO DE CARBONO (CO ₂)			HIDROGENO (H ₂)		
	B	C	Lag	B	C	Lag	B	C	Lag	B	C	Lag
TC0	65.0 0	0.08	3.85	35.0 0	0.03	3.85	42.50	0.03	6.10	0.24	0.04	10.7 6
TC1.5	65.0 0	0.06	3.10	40.0 0	0.03	6.10	32.50	0.03	6.10	0.34	0.03	20.2 6
TC3	67.5 0	0.03	3.10	20.0 0	0.03	6.10	20.00	0.03	6.10	0.27	0.02	35.5 1
TC4.5	50.0 0	0.03	0.85	10.0 0	0.03	6.10	10.00	0.03	6.10	0.05	0.03	7.41
TC6	52.5 0	0.03	0.10	10.0 0	0.03	6.10	10.00	0.03	6.10	0.01	0.12	0.58
SEM (POOLD)	2.41	0.01	0.91	7.40	0.00	0.64	3.03	0.00	0.00	0.04	0.02	2.98
VALOR P:												
LINEAL	0.00 1	0.02 6	0.31 4	0.00 1	0.15 8	0.00 1	0.001	0.158	NS	0.00 1	0.00 1	0.00 1
CUADRÁTICO	0.00 1	0.51 8	0.18 0	0.00 1	0.23 2	0.00 1	0.001	0.232	NS	0.00 1	0.00 1	0.00 1
CUBICO	0.00 1	0.05 2	0.29 4	0.00 1	0.47 9	0.00 1	0.001	0.479	NS	0.00 1	0.00 1	0.00 1

Dónde: B = producción de gas asintótica (mL g⁻¹ DM); c= tasa de producción de gas (h⁻¹); Lag =la demora inicial antes de que comience la producción de gas (h); presencia de taninos condensados (TC) de *C. coriaria* a 0 (TC0), 1.5 (TC1.5), 3.0 (TC3), 4.5 (TC4 .5) y 6.0 (TC6) % de la ración mixta total.

X. DISCUSIÓN

La producción de rumiantes sigue siendo objeto de una intensa indagación debido a su contribución a los gases de efecto invernadero, especialmente CH₄ y N₂O. Como tal, es imperativo encontrar aditivos amigables con el medio ambiente que se puedan agregar a las dietas de los animales para reducir los GEI producidos sin comprometer la capacidad de fermentación del rumen, la digestibilidad y el rendimiento de la producción. Los aditivos fitogénicos para dietas ricas en metabolitos secundarios de plantas tienen la capacidad de ayudar a la digestión o de reducir la digestión según su efecto. Además, en el área tropical, que se caracteriza por forrajes de mala calidad, la evaluación *in vitro* ayuda a dar una evaluación potencial de los aditivos alimentarios en el ecosistema del rumen, ya sea que promueva la salud del rumen o no. Además, la evaluación exitosa de estos árboles será de gran ayuda para mostrar si se puede integrar con pastizales o como aditivos en la dieta del ganado.

Biogás

Los aditivos vegetales ricos en metabolitos secundarios pueden ayudar a mejorar la digestión y disponibilidad de nutrientes de los animales porque sus metabolitos pueden mejorar la actividad del rumen (Kholif *et al.*, 2015). La inclusión de taninos condensados a un nivel moderado tiene la tendencia a mejorar el suministro de aminoácidos al intestino o proteger el aminoácido de los desaminados/ degradados (Patra y Saxena, 2011; Zamiri *et al.*, 2015). Sin embargo, en altas concentraciones, la disminución de la actividad microbiana del rumen inhibe las actividades de las enzimas digestivas endógenas (Huang *et al.*, 2017). En este estudio, la concentración de taninos mostró que no hubo inhibición de la actividad digestiva ya que los biogases continuaron aumentando de manera constante. Esto sugiere que, independientemente de la concentración, de taninos de *C. coriaria*, tiene el potencial de tener un impacto prolongado en la digestión durante un largo período de tiempo y mejorar la actividad microbiana del rumen. Sugiere que si se alimenta a los rumiantes, podría ser eficaz para proporcionar un ambiente ruminal estable para

favorecer la actividad continua de la digestión microbiana. Los gases producidos entre las concentraciones de CT se redujeron a una tasa dependiente de la dosis. Esto puede atribuirse al efecto negativo de una mayor concentración de taninos condensados de *C. coriaria*. Esto sugiere que a concentraciones más altas, se impidió la actividad, función microbiana o quizás redujo la actividad enzimática de los microbios que afectaron la función de degradación en comparación con el control. Es bien sabido que el volumen de producción de gas es proporcional a la tasa de degradación de la alimentación; por lo tanto, la menor producción de gases con el aumento de TC sugiere que creó una condición poco saludable ya sea por la unión de nutrientes o por inhibición del crecimiento microbiano a través de la toxicidad. Las plantas que contienen taninos condensados son eficaces para reducir el gas *in vitro* total (Bhatta *et al.*, 2009).

Entre la tasa fraccional de producción de gas, alguna concentración de TC mejoró la digestión. Una fracción y una tasa más altas de GP sugieren una mayor digestión y el crecimiento de los microorganismos y actividad enzimática (Getachew *et al.*, 2004). Por lo tanto, TC mejora la GP fraccional hasta TC3.0 antes de que comience a disminuir a pesar de la disminución lineal en la tasa de producción de gas. Esto indica que a un nivel moderado, los taninos condensados de *C. coriaria* tiene el potencial de mejorar la digestión del alimento sin comprometer las actividades microbianas. Además, un GP más bajo a un nivel más alto de TC sugiere que el TC puede tener un efecto negativo en la digestión del alimento o en el ambiente del rumen si se consume en una cantidad mayor

CH₄, CO₂ y H₂

El metano y el CO₂ biogénicos son subproductos de la fermentación entérica y gases de efecto invernadero importantes porque contribuyen al calentamiento global. Los gases también aumentan la pérdida de energía neta de alimentación del animal (Johnson y Johnson, 1995; Hernandez *et al.*, 2017). Además, el H₂ se sinergiza con el CO₂ del rumen para formar CH₄ mediante metanógenos. Por lo tanto, una reducción en el nivel de H₂ o la creación de un sumidero alternativo para H₂ podría reducir las emisiones de metano. Además, aunque en todo momento hubo

un aumento progresivo en la producción acumulada de gases, la aplicación de taninos condensados de *C. coriaria* disminuyó la producción de gas CH₄, CO₂ y H₂ al aumentar el nivel de TC. La disminución puede atribuirse a la reducción de la digestión que se indica a través de una menor producción de gas con una mayor inclusión de TC. Sin embargo, la fracción de estos gases mostró que CH₄, CO₂ y H₂ disminuyeron linealmente al aumentar la inclusión de CT. La razón de la disminución de CH₄ podría atenuarse a la disminución de la producción de H₂ o CO₂, que son gases importantes para la producción de metano. Se informa que algunos aditivos alimentarios son capaces de competir y metabolizar el H₂ para otros usos, lo que evita que los metanógenos los utilicen para el metano (Reddish y Kung, 2007). Como tal, podría ser que el TC creara una forma alternativa de sumidero/utilización de H₂ que redujera la disponibilidad o impidiera que el metanógeno utilizara H₂. La reducción en el tiempo de retraso para la producción de CH₄ por todo el grupo de TC mostró que hubo un retraso en la producción de metano en comparación con el TC0 que fue de tiempo de retraso más corto, lo que sugiere que los procesos de metanogénesis o metanógenos se retrasaron por la inclusión de TC que fue más rápido en TC0. La menor producción proporcional de CH₄ son evidencias de que los aditivos fueron efectivos para disminuir la producción de CH₄ a través de la disminución de las bacterias ruminales productoras de hidrógeno metanogénico y grampositivo (H₂) y, en consecuencia, la emisión de CH₄ (Elghandour *et al.*, 2015; Vallejo-Hernandez *et al.*, 2018). Estos efectos pueden atribuirse al efecto antimetanógeno asociado a los taninos condensados (Sánchez *et al.*, 2018; Bhatta *et al.*, 2009). La reducción de la emisión de CH₄ podría incrementar potencialmente el aumento de peso corporal y la producción de leche en rumiantes (Nkrumah *et al.*, 2006). Es sorprendente que a pesar de la disminución lineal en la producción de H₂, hubo un aumento lineal en el tiempo de retardo de H₂ a concentraciones de TC más bajas mientras que a concentraciones más altas se redujo el tiempo de retardo. Se desconoce la razón de esto. En áreas tropicales caracterizadas con una dieta de forrajes de baja calidad, que apoya una mayor producción de GEI, la inclusión de *C. coriaria* CT en la dieta de concentrado o la siembra en un campo de pastoreo en un sistema silvopastoril podría ayudar a reducir las emisiones de GEI en pequeños

rumiantes. Además de su potencial como antimetanogénico, la capacidad de fijación de nitrógeno de esta planta muestra que se puede agregar sembrada en el campo y ayudar a fijar el nitrógeno en el suelo. Además, la naturaleza arbórea de esta planta muestra que puede proporcionar sombra a los animales en el sistema silvopastoril para ayudar a reducir el estrés por calor en los animales en pastoreo.

XI. CONCLUSION

La inclusión de taninos condensados (TC) de *C. coriaria* en diferentes dosis tuvo un efecto variable sobre la producción de gas. Desde el punto de vista ambiental, cuanto mayor sea la inclusión de TC, menores serán los gases de efecto invernadero producidos. Pero nutricionalmente, aumentar el nivel de TC mejora la producción de gas, hasta cierto punto antes de disminuir la producción de biogás. Por lo tanto, la nutrición animal no se trata solo de reducir las emisiones de GEI, sino también de una digestión eficiente de los alimentos. Desde una perspectiva equilibrada, la inclusión de CT3.0 parece ser ecológica y nutricionalmente eficiente.

XII. LITERATURA CITADA

- Aguilar, R. G., M.L. Leal., R. E. Campocosio. T. A. (2004). Effect of culture parameters on the degradation of a hydrolyzable tannin extracted from cascalote by aspergillus niger, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1(73):45–52
- Álvarez, J. M. (2007). Tanino, la revolución enológica, mito o realidad, Rev. Enología 2 (6). 15
- Andrade R.E, Castelán O.O.A, Martínez C.A.R, Estrada J. (2013). Reducción de las emisiones de metano en la fermentación ruminal in vitro utilizando plantas taníferas. <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/reduccion-emisiones-metano-fermentacion-t30042.htm>.
- Ayala, M.M.A. (2013). Inclusión de taninos en la dieta de ovinos en finalización: respuesta en calidad de la carne. Tesis de Maestría. Colegió de postgraduados, campus montecillo. México
- Barry, T.N., Mc Nabb, W.C. (1999). The Effect of Condensed Tannins in Temperate forages on Animal Nutrition and Productivity. In Tannins in Livestock and Human Nutrition, pp 30-35 [J D Brooker, editor]. Canberra Australian Center for International Agricultural Research. www.aciar.gov.au.
- Bhatta R. M., Saravanan L. B. and Prasad C. S. 2015. Effects of graded levels of tannin-containing tropical tree leaves on in vitro rumen fermentation, total protozoa and methane production Energy Metabolism Laboratory, Division of Bioenergetics and Environmental Sciences National Institute of Animal Nutrition and Physiology (ICAR) Bangalore, INDIA
- Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana, (2009) Descripción del árbol de cascalote *Caesalpinia coriarea* (Jacq.) Willd. Consultado en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Cascalote&id=7133>.
- Bodas, R., Prieto, N., García G. R., Andrés, S., Giráldez, F.J., López, S. (2012). Manipulation of rumen fermentation and methane production with

plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*, 176(1): 78– 93.

- Camacho D.L.M., De Jesús R.C.O., Cipriano S.M., Cruz L.B. (2015). Taninos condensados del cascalote (*Caesalpinia coriaria* jacq) y su efecto sobre el contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche de vacas doble propósito. *Foro de Estudios sobre Guerrero*. Mayo 2014 – Abril 2015, 1-2:372-376.
- Campos G.C.M., Cordero J.A., Rojas B.A., Villalobos L.V. (2018). Producción de gas in vitro y metano entérico de los principales forrajes utilizados en fincas comerciales de Costa Rica. *Centro de Investigación en Nutrición Animal y Escuela de Zootecnia, Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica. Agroproductividad: Vol. 11, Núm. 2, febrero. 2018. pp: 64-69.*
- Carulla, J. E., M. Kreuzer, A. Machmüller, H. D. Hess. (2005). Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 56:961-970.
- Crosby G.M.M., Ramírez-M. M. (2018). Técnica de producción de gas in vitro para estimar la producción de metano. *Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Programa de Ganadería. Carretera México- Texcoco km 36.5. Montecillo, Texcoco, Estado de México. C. P. 56230. Agroproductividad: Vol. 11, Núm. 2, febrero. 2018. pp: 64-69.*
- Crutzen, P. J.; Sanhueza, E. and Brenninkmeijer, C. A. M. 2006. Methane production from mixed tropical savanna and forest vegetation in Venezuela. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions.* 6(2):3093-3097.
- Elgahndour M., Vázquez J.C, Salem A.Z.M, Kholif A.E, Cipriano M.M., Camacho L.M., Márquez O. (2017). In vitro gas and methane production of two mixed rations influenced by three different cultures of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Applied Animal Research* 45: 389-395.
- Escaray, J.F. (2007) Taninos condensados en leguminosas del género *Lotus*: Estudio de sus funciones biológicas y evaluación de su utilidad en el mejoramiento de la calidad forrajera de especies de importancia agronómica

Tesis doctoral: Universidad de Buenos Aires. Área Ciencias Agropecuarias, Argentina.

- Fraga. C.M. (2010). Microbiota ruminal: estrategias de modulación con microorganismos fibrolíticos. Tesis de maestría, Facultad de ciencias. Universidad de la Republica Uruguay.
- Fraser T J, Rowarth J S and Knight T L. (1997). Pasture Species Effects On animal performance. Proceeding of the XVIII. International Grassland Congress Canada. 29, 23-24.
- García, D.E. (2004). Principales factores anti nutricionales de las leguminosas forrajeras y sus formas de cuantificación. Pastos y Forrajes, 27(2).
- Hervás. N. (2001). Taninos condensados 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 de doctorado, Universidad de León, España.
- Hess. D.H. Gómez. J. (2004). Taninos en la nutrición de rumiantes en Colombia, memorias del taller sobre taninos CIAT.
- Hipólito J.I.M. (2007). Taninos o polifenoles vegetales. Facultad de Tecnología, Escuela de Química Universidad Tecnológica de Pereira. La Julita, A.A. 097 Pereira, Colombia Scientia et Technica Año XIII, No 33. UTP. ISSN 0122-1701.
- Hristov, A. N.; Oh, J.; Firkins, J. L.; Dijkstra, J.; Kebreab, E.; Waghorn, G.; Makkar, H. P.; Adesogan, A. T.; Yang, W.; Lee, C.; Gerber, P. J.; Henderson, B. and Tricarico, J. M. 2013. Special topics- mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. J. Animal Sci. 91(11):5045-5069.
- INAFOR. (2002). Guía de especies forestales de Nicaragua. 1era edición. Managua, Nicaragua. Editora de arte. 215 p.
- IRENA (1992). Árboles forestales útiles para su propagación. Servicio Forestal Nacional, Managua, Nicaragua. 414-418pp.

- Kathirvelan, C., Tyagi, A. K., Krishnamurthi, P. (2008). Influence of conjugated Linoleic acid ghee feeding on cancer incidences and histopathological changes in 7, 12 dimethylbenz anthrazene induced mammary gland carcinogenesis in rats. *Veterinarski Arhiv*, 78(6), 511–520.
- León-Castro, Y., Olivares-Pérez, J., Rojas-Hernández, S., Villa-Mancera, A., Valencia-Almazán, M.T., Hernández-Castro, E., Córdova-Izquierdo, A., Jiménez-Gillén, R., 2015. Effect of three fodder tree on *Haemonchus contortus* control and weight variations in kids. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 2 (5), 193-201.
- López, J., I. Tejada, C. Vazquez, G. De Dios, A. Shimada. (2004). Condensed tannins in humid tropical fodder crops and their In vitro biological activity part 1. *J. Sci Food Agric*. 84: 295 - 299.
- Márquez, L.D., Álvaro, L.S. (2008). El uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes. *Revista de Medicina Veterinaria* 3, (16), 90-101 pp.
- Menke, K.H., Steingass, H. (2017). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analyses and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28, 7-55
- Merino. H.V.L. (2013). Crecimiento pre y post destete de corderos alimentados con o sin levadura *Saccharomyces Cerevisiae*. Tesis para obtener el Título de Médico Veterinario, México.
- Mohammed Benaouda, Manuel González Ronquillo, Luisa T. Molina y Octavio Alonso Castelán Ortega. (2017). Estado de la investigación sobre emisiones de metano entérico y estrategias de mitigación en América Latina. Facultad de Veterinaria y Zootecnia-Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Literario Núm. 100. Colonia Centro, Toluca, México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* Vol.8 Núm.4.
- Molina. S. J. M., Cano. M. T. M. (2002) extracción y caracterización de taninos en corteza de 3 especies forestales cultivadas en Guatemala, pino ocote (*Pinus oocarpa schiede*), encino negro (*Quercus brachystachys benth*) y aliso común (*Alnus jorulensis hbk.*). Una alternativa de desarrollo

agroindustrial para el uso de taninos naturales. Facultad de ingeniería, Guatemala.

- Mora, S, A, Roman, M, M.L, González, C, G. A y Barrientos, R, L. (2018). Composición química del cascalote *Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd., y diversidad de usos en el medio rural, del trópico seco. Revista de Investigación y Desarrollo., 4-12: 24-2, 4-12: 24-28.
- Otero, M.J., Hidalgo, G.L.G. (2004). taninos condensados en especies forrajeras de clima templado: efectos sobre la productividad de rumiantes afectados por parasitosis gastrointestinales. Tandil. Unicen, Buenos Aires, Argentina.
- Pal, A.K. Patra, A. S., and Kumawat P.K., (2015). Evaluation of several tropical tree leaves for methane production potential, degradability and rumen fermentation in vitro, Livestock Science, <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2015.07.011>
- Pérez, R.M. (1997). Valor Nutricional Foliar de Tres Especies de Acacia. UANL. Facultad de ciencias forestales subdirección de postgrado. 16-18 pp.
- Ramírez, L.R.G. (2008). Nutrición de caprinos: en Pastoreo. Ed. Trillas, México. 96-102 pp
- Reed, J. D. (1995). Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. Journal of Animal Science 73:1516-1528.
- Rotger, C.A. (2004). Fermentación ruminal, degradación proteica y sincronización energía-proteína en terneras en cebo intensivo, Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Terrill, T.H., G. B. Douglas, A. G. Foote, R. W. Purchas, G. F. Wilson and T. N. Barry (1992). Effect of condensed tannins upon body growth, wool growth and rumen metabolism in sheep grazing sulla (*Hedysarum coronarium*) and perennial pasture. The Journal of Agricultural Science. 119 (2):265-273.
- Tiemann, T.T. Ávila, P., Ramírez, G., Hess, H.D., Lascano, C.E. (2006). Efecto de taninos extraídos de leguminosas arbustivas sobre la dinámica de fermentación ruminal. En: Segundo Taller Taninos en la nutrición de rumiantes en Colombia. Memorias. Editores: Hans Dieter Hess, Julia Gómez

Q. y Carlos E. Lascano. Publicación CIAT No. 352. ISBN 958694-087-X. Cali, Colombia.

- Torres, A.J., Días L.M., Hervé, H.C., Castro, S.C y Aguilar, C.A.J. (2008). Efectos negativos y positivos del consumo de forrajes ricos en taninos en la producción de caprinos. FMVZ, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida Yucatán, México. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 9 (8): 83-90.
- Trujillo, G.A. (2012). Comportamiento productivo y niveles de ácido oleico en la canal de corderos suplementados con *sacharomyces cerevisiae*, colegio de postgraduados. Tesis de maestría, México.
- Vargas, J.1., Pabón, M. y Carulla, J. (2014). Producción de metano in vitro en mezcla de gramíneas-leguminosas del trópico alto colombiano. Departamento de Producción Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. *jekarullaf@unal.edu.co *Arch. Zootec.* 63 (243): 397-407. 2014.
- Waghorn, C. G., Shelton, I. D., McNabb, W. C. and McCutcheon, S. N. (1994) Effects of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on its nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. *Journal of Agricultural Science*, 123:109-119.
- Wang, Y., Douglas, G. B., Waghorn, C. G., Barry, T. N., Foote, A. G. and Purchas, R. W. (1996). Effect of condensed tannins upon the performance of lambs grazing *Lotus corniculatus* and Lucerne (*Medicago sativa*). *Journal of Agricultural Science*, 126:87-98.