

**Universidad Autónoma de Sinaloa
Colegio de Ciencias Agropecuarias
Doctorado en Ciencias Agropecuarias**



TESIS:

“Influencia de la adición de extracto de taninos en la producción de gas a partir de las heces de bovinos en engorda”

**Que para obtener el grado de Doctora en Ciencias
Agropecuarias**

Presenta:

MC. Eva Xitlalic Murillo Ayala

Director de tesis:

Dr. Rubén Barajas Cruz

Co-Director:

Dr. Javier Alonso Romo Rubio

Asesores:

Dra. Idalia Enríquez Verdugo

Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho

Dr. Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola

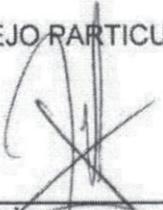
Culiacán, Sinaloa, Julio de 2021

ESTA TESIS FUE REALIZADA POR EVA XITLALIC MURILLO AYALA, BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y FUE APROBADA POR EL MISMO, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

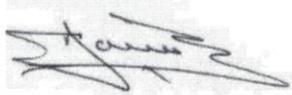
CONSEJO PARTICULAR

DIRECTOR



DR. RUBÉN BARAJAS CRUZ

CO-DIRECTOR



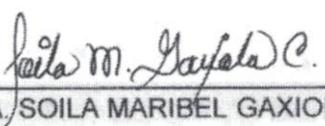
DR. JAVIER ALONSO ROMO RUBIO

ASESOR



DRA. IDALIA ENRIQUEZ VERDUGO

ASESOR



DRA. SOILA MARIBEL GAXIOLA CAMACHO

ASESOR



DR. MIGUEL ÁNGEL RODRÍGUEZ GAXIOLA

CULIACAN, SINALOA, JULIO DE 2021



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS
REPOSITORIO INSTITUCIONAL

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de Culiacán el día 16 del mes Julio del año 2021, el (la) que suscribe alumno (a) del Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias con número de cuenta 8024261, de la Unidad Académica Colegio de Ciencias Agropecuarias, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Rubén Barajas Cruz y de acuerdo al artículo 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor, cede los derechos del trabajo intitulado “Influencia de la adición de extracto de taninos en la producción de gas a partir de las heces de bovinos en engorda”, a la Universidad Autónoma de Sinaloa para su publicación, difusión, edición, reedición, traducción, compilación, distribución y explotación en medios impresos y digitales, con fines académicos y de investigación, la que será titular del mismo, en forma conjunta o separada con el autor.

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de ésta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

En apego al Art. 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor Cedo el derecho de publicación, difusión, edición, reedición, traducción, compilación, distribución y explotación en medios impresos y digitales, con fines académicos y de investigación a la Universidad Autónoma de Sinaloa.

Eva Xitlalic M.

MC. Eva Xitlalic Murillo Ayala



UAS- Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial-Compartir Igual, 4.0 Internacional.

DEDICATORIA

A mi director de tesis Dr. Rubén Barajas Cruz, por su confianza, su amistad y su apoyo durante todo el camino de mi carrera, desde licenciatura, maestría y doctorado, por darme siempre su tiempo y dedicación. Por ser un ejemplo de excelencia académica y profesional. Por transmitirme sus conocimientos, y estar siempre presente cada vez que lo necesité.

Dedico con todo mi amor el trabajo de tesis a mi madre, Eva Luz Ayala Olivas, por brindarme en todo momento su amor, apoyo, comprensión, paciencia y educación a lo largo de toda mi vida, siendo siempre mi pilar de fuerza y motivación para superarme en todos los sentidos. Te amo.

A mi padre, Jesús Manuel Murillo Samaniego, por apoyarme incondicionalmente en la parte moral y económica para llegar a ser un profesional.

A mi hija, Eva Catalina Castro Murillo, por enseñarme a conocer el verdadero amor, ella, quien de ahora en adelante es mi motivación para ser una mejor persona, tanto moral como profesional.

A mi esposo José Pedro Castro Montoya, por su tolerancia y darme su apoyo en todo lo que está a su alcance, sin importar las condiciones.

A mis hermanos, Alma Zulema Murillo Ayala, Uriel Eduardo Gastelum Ayala y José Daniel Murillo Ayala, por ser parte de mi familia y su apoyo incondicional durante toda mi vida cotidiana.

AGRADECIMIENTOS

A mi amiga Melissa Belem Corona Palazuelos, por estar siempre apoyándome en todos los proyectos de mi vida, por todo el tiempo de amistad y por pasar juntas buenos y malos momentos tanto como profesional y personalmente.

A mis maestros y asesores, por guiarme en mi formación académica.

Al equipo de trabajo de laboratorio, en especial al MC. Diego Jiménez y al MC. Ernesto Velázquez, por su ayuda incondicional en todo el proceso de material y métodos de mi trabajo de tesis.

A la Universidad Autónoma de Sinaloa y al Colegio de Ciencias Agropecuarias, por toda la ayuda brindada en mi formación académica.

A la Ganadera Los Migueles, S.A. de C.V., a su Director Ing. Regulo Terraza Romero y al Gerente de Producción MVZ Billy Josué Cervantes Pacheco por las facilidades otorgadas en el uso de animales e instalaciones para la realización del presente trabajo.

A CONACYT, por el apoyo económico, durante todo el proceso de mis estudios del doctorado.

A Técnica Mineral Pecuaria, S.A. de C.V. por el donativo de los extractos de taninos, para la realización de mi trabajo de tesis.

CONTENIDO	PÁGINA
ÍNDICE DE CUADROS	1
RESUMEN	2
ABSTRACT	3
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA	4
1.1. INTRODUCCIÓN	4
1.2. REVISIÓN DE LITERATURA	5
1.2.1. Impacto ambiental	5
1.2.2. Ganadería bovina y emisiones de gases	6
1.2.3. Generalidades metabólicas a nivel ruminal	7
1.2.4. Población microbiana en rumen	7
1.2.5. Estrategias nutricionales y su efecto sobre la producción de gases	8
1.2.6. Efecto de los metabolitos secundarios de las plantas sobre la microflora ruminal y la emisión de gases	9
1.2.7. Taninos	10
1.2.7.1. Generalidades	10
1.2.7.2. Taninos hidrolizables	11
1.2.7.3. Taninos Condensados	11
1.2.7.4. Efecto de taninos en nutrición y producción de gas	12

1.3. CONCLUSIONES	14
1.4. LITERATURA CITADA	15
CAPÍTULO 2. PRODUCCIÓN DE GAS EN HECES BOVINAS AÑADIENDO TANINOS DIRECTAMENTE O EN LA DIETA	19
2.1. RESUMEN	19
2.2. INTRODUCCIÓN	20
2.3. MATERIAL Y MÉTODOS	21
2.3.1. Experimento 1	21
2.3.2. Experimento 2	24
2.3.3. Análisis estadístico	25
2.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
2.4.1. Experimento 1	26
2.4.2. Experimento 2	28
2.5. CONCLUSIÓN	31
2.6. AGRADECIMIENTOS	31
2.7. LITERATURA CITADA	31
CAPÍTULO 3. INLFUENCIA DEL NIVEL DE ADICIÓN DE EXTRACTO DE TANINOS EN LA PRODUCCIÓN DE GAS <i>IN VITRO</i> DE LAS HECES DE BOVINOS	36
3.1. RESUMEN	36
3.2. INTRODUCCIÓN	38
3.3. MATERIAL Y MÉTODOS	39
3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
3.5. CONCLUSIONES E IMPLICACIONES	44
3.6. AGRADECIMIENTOS Y CONFLICTO DE INTERESES	45

3.7. LITERATURA CITADA	45
CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES GENERALES	51

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1	Composición de las dietas utilizadas en los experimentos de producción de gas de las heces.	23
2	Influencia de la adición de extracto de taninos a las heces de bovinos en la producción de gas <i>in vitro</i> (Experimento 1).	26
3	Influencia de la adición de extracto de tanino a la dieta en la producción de gas de las heces de becerros (Experimento 2).	29
4	Composición de la dieta consumida por los bovinos utilizados en la prueba	49
5	Influencia de la concentración de extracto de taninos adicionados en la producción de gas <i>in vitro</i> y contenido de amoníaco de las heces.	50

RESUMEN

Se realizaron tres experimentos para determinar el efecto de los extractos de taninos (ET) en la producción de gas. En el experimento 1 se colectaron heces de cinco toretes (420 ± 10 kg) de un mismo corral durante cuatro días consecutivos para tener una muestra por día, 100 g de las heces se colocaron en frascos de 600 mL para cada muestra y aleatoriamente se adicionaron los siguientes tratamientos: 1) Heces sin adición de ET; y 2) Heces más 7.4% de ET condensados. En el experimento 2 los tratamientos fueron: 1) dieta sin ET; 2) Dieta + 0.6% de taninos condensados; y 3) Dieta + 0.6% de taninos hidrolizables. Cada tratamiento fue ofrecido a seis becerros (220 ± 9 kg) durante 28 días y luego se obtuvieron muestras de heces. En los dos experimentos las heces obtenidas se incubaron durante 24 h para medir su producción de gas por desplazamiento de agua. Los datos obtenidos de gas se compararon con Diseño experimental de bloques al azar. Experimento 3. Se tomaron muestras (200 g) de heces de ocho toretes en finalización. Se mezclaron en una muestra compuesta, se tomaron cuatro alícuotas de 300 g y se disolvieron en 300 g de H₂O destilada. Se asignaron aleatoriamente a cuatro tratamientos: 1) Heces sin la adición de extracto de taninos (Testigo); 2) Heces más 4% (base seca) de Extractos de Taninos (ET); 3) Heces más 8% de ET; y 4) Heces más 12% de ET. Alícuotas de 100 g se colocaron en frascos de 400 mL y se incubaron durante 24, la producción de gas se midió por desplazamiento de agua. Los resultados se analizaron ANDEVA, polinomios y regresión lineal simple. En el Experimento 1, la adición de 7.5% e ET disminuyó ($P < 0.01$) en 44% la producción de gas *in vitro*. En el Experimento 2, La adición de ET en la dieta de los bovinos no modificó ($P > 0.10$) la producción de gas de las heces. En el Experimento 3, la producción de gas *in vitro* de las heces disminuyó linealmente ($P < 0.01$) a medida que se incrementó la cantidad de ET adicionados. Se concluye que la adición de extracto de taninos directamente a las heces disminuye la producción de gas cuando se descompone; pero que su inclusión en la dieta de los bovinos carece de efecto en la producción de gas del excremento.

ABSTRACT

Three experiments were conducted to determine the tannin extract (TE) effect on gas production. In Experiment 1, feces were collected from five bullocks (420 kg \pm 10 kg) placed in the same corral, samples were taken during four consecutive days in way to have a sample by day. 100 g of feces were placed in 600 mL flask and randomly were added the treatment as follows: 1) Feces without TE addition; and 2) Feces plus 7.4% of condensed TE. In Experiment 2, treatments were: 1) Diet without TE; 2) Diet + 0.06% of condensed TE; and 3) Diet + 0.06% of hydrolysable TE. Each treatment was offered during 28 days to six calves (220 \pm 9 kg) during 28 days, and then fecal samples were obtained. In both experiments, the feces were incubated during 24 h in way to measure gas production by water displacement method. Data were compared by ANOVA for a complete randomized block design. Experiment 3, fecal samples (200 g) were taken from eight finishing bullocks; were mixed in a composted blend, and four 300 g aliquots were taken and dissolved in 300 g of distilled water. Randomly were assigned to four treatments: 1) Feces without TE addition; 2) Feces plus 4% of TE; 3) Feces plus 8% TE; and 4) Feces plus 12% of TE. Aliquots of 100 g were included in 400 mL flask and incubated during 24 h, gas production was measured by water displacement method. Results were analyzed by ANOVA, Polynomials, and linear regression procedures. In Experiment 1, addition of 7.5% of TE diminished ($P < 0.01$) in 44% *in vitro* gas production. In Experiment 2, TE addition in to the diet of bovines did not modify ($P > 0.10$) gas production from feces. In Experiment 3, *in vitro* gas production from feces diminishes linearly ($P < 0.01$) as added tannin extract increased. It is concluded, that direct addition of tannin extract to feces diminish their gas production when is degraded; but the tannin extract inclusion in bovine diet have not effect on gas production from feces.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. INTRODUCCIÓN

Las heces de los bovinos representan una fuente importante de contaminación fecal al medio ambiente (Van Kessel *et al.*, 2007), el manejo de las excretas y el aumento en el tamaño de las explotaciones pecuarias y su cercanía cada vez mayor a los centros de población, los problemas relacionados con la contaminación ambiental se vuelven de atención prioritaria (Adeola, 1999). El manejo de las excretas de las explotaciones de bovinos en confinamiento, se relaciona con el impacto al medio ambiente, y en este sentido la reducción en la emisión de sólidos, líquidos y olores son factores que presionan a la ganadería intensiva; (Archibeque *et al.*, 2006). Una alternativa para disminuir la emisión de olores, es reducir la cantidad de gases producidos por las heces de los bovinos en engorda, donde los extractos de taninos (ET) han probado ser de utilidad para disminuir la producción de gas modificando la fermentación en rumen (Bernal *et al.*, 2008; Lascano y Cárdenas, 2010; Cárdenas, 2012). Los taninos son compuestos polifenólicos producidos por el metabolismo secundario de una amplia variedad de plantas (Frutos *et al.*, 2004) que se relaciona con la protección contra infección, insectos o animales herbívoros (Duval y Averous, 2016). Los taninos se pueden separar en dos grupos estructurales: taninos hidrolizables y taninos condensados (Frutos *et al.*, 2004; Vázquez *et al.*, 2012; Kardel *et al.*, 2013). Los extractos de estos tipos de taninos modifican la fermentación en el rumen y reducen la producción de gas (Bernal *et al.*, 2008; Lascano y Cárdenas, 2010; Cárdenas, 2012). Esto se le atribuye a que los taninos son capaces de unirse a las proteínas de la membrana celular de una serie de bacterias ruminales por lo que modifican su estructura y función, inhibiendo su capacidad de unirse a las partículas de alimento y la posibilidad de fermentar los nutrimentos contenidos en ellas (Cárdenas, 2012). Murillo (2013), reporta que la inclusión de taninos condensados a las heces de bovinos en engorda disminuye la producción de gas derivadas de las excretas. La presente investigación se llevó a cabo para determinar el efecto de los extractos de taninos en la producción de gas en las heces de los bovinos.

1.2. REVISIÓN DE LITERATURA

1.2.1. Impacto ambiental

La producción pecuaria es considerada como una de las causas que contribuyen a los problemas ambientales en el mundo, así como el calentamiento global, la degradación de las tierras, la contaminación del aire y del agua, por consecuencia la pérdida de biodiversidad (Santacoloma, 2011). Con el aumento en el tamaño de las explotaciones pecuarias y su cercanía cada vez mayor a los centros de población, los problemas relacionados con la contaminación ambiental se vuelven de atención prioritaria (Adeola, 1999; McAllister y Newbold, 2008), este fenómeno de intensificación de los sistemas productivos es creciente debido a que la demanda mundial de carne y leche cada vez es más alta debido al crecimiento de población y auge del comercio internacional (Santacoloma, 2011). El manejo de las excretas de las explotaciones de bovinos en confinamiento, se relaciona con el impacto al medio ambiente, en este sentido la emisión de sólidos, líquidos y especialmente los olores son factores que presionan a la ganadería intensiva; los olores son producidos por las sustancias orgánicas que se volatilizan en forma de gas y de esta manera se difunden en el ambiente (Archibeque *et al.*, 2006). Existen diversas actividades dentro de la industria agropecuaria, que contribuyen ampliamente al calentamiento global, entre ellas la emisión de gases en la excretas (Bernal y Suárez, 2011), como el metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂) y óxido nitroso (N₂O) a la atmósfera (Carmona *et al.*, 2005; Montenegro y Abarca, 2002).

En consecuencia, el aumento de las concentraciones de los gases antes mencionados, provocan el calentamiento de la superficie terrestre y la destrucción de la capa de ozono (Carmona *et al.*, 2005; Primavesi *et al.*, 2004). Los rumiantes contribuyen significativamente a la liberación de altas cantidades de gases a la atmósfera como el gas carbónico y el metano (Santacoloma, 2011), resultado del

sistema digestivo bovino, que tiene la capacidad de aprovechar y convertir material fibroso con altos contenidos de celulosa en alimentos de alta calidad nutritiva como la carne y leche; sin embargo estas características del sistema digestivo también produce gases, como producto natural de la degradación de carbohidratos en el proceso digestivo a nivel de rumen, por lo que la emisión de estos gases representa energía alimenticia que se pierde en forma de gas, y que no es aprovechada para producir leche o carne (Montenegro y Abarca, 2002). La ganadería bovina en el mundo, muestra una gran importancia económica y social en contraste con los efectos ambientales que generan estos sistemas productivos, el crecimiento de la producción y de la población animal ejercerá cada vez mayor presión sobre los recursos naturales y medio ambiente en los cuales se sustenta (Santacoloma, 2011).

Es necesario plantear alternativas de manejo que favorezcan la reducción de la emisión de gases, producto de la actividad agropecuaria, para garantizar un mejor cuidado del medio ambiente y una mejora en la producción pecuaria (Bernal y Suárez, 2011). Algunas estrategias para reducir la emisión de gases en bovinos son: mejorar la producción teniendo menos animales por hectárea (Montenegro y Abarca, 2002); utilizar pasturas de mejor calidad; con algunos aditivos como ionóforos y grasas (Carmona *et al.*, 2005); utilizar sistemas silvopastoriles para mejorar las características fermentativas a nivel ruminal (Mahecha, 2002; Carmona *et al.*, 2005), así como utilizar especies vegetales que posean taninos (Bernal y Suárez, 2011). Disminuir la emisión de gases en la explotación ganadera y mejorar la productividad animal debe ser uno de los retos que se tienen que afrontar en el futuro del Zootecnista, así como lograr la reconversión ganadera, la rehabilitación ecológica de paisajes ganaderos y el establecimiento de los sistemas agroforestales o agroforestería pecuaria (Bernal y Suárez, 2011).

1.2.2. Ganadería bovina y emisiones de gases

Según Bernal y Suárez (2011), reportan que la ganadería bovina en general emite el 9% del total de dióxido de carbono, el 37% de las emisiones de gas metano, que provienen de la fermentación entérica y del estiércol; el metano (CH₄) es uno

de los principales gases con efecto invernadero que requiere ser mitigado. El proceso de fermentación parece ser similar en cultivos de microorganismos ruminales o fecales; sin embargo, los bajos niveles de microbios que sobreviven significan que inóculos derivados de la materia fecal exhibirá una potencia reducida respecto al del líquido ruminal (Dhanao *et al.*, 2004).

1.2.3. Generalidades metabólicas a nivel ruminal

La producción de gases es parte del proceso digestivo de los rumiantes; la fermentación que ocurre en el rumen durante el metabolismo de los carbohidratos de material vegetal ingeridos es un proceso anaerobio efectuado por la población microbiana del rumen (Santacoloma, 2011), que convierte los carbohidratos en ácidos grasos de cadena corta, principalmente ácido acético, propiónico y butírico (Primavesi *et al.*, 2004). La emisión de metano varía entre 4% y 9% de la energía bruta del alimento ingerido, esto representa que la energía alimenticia se transforma en forma de gas y no es aprovechada por el animal (Montenegro y Abarca, 2000; Primavesi *et al.*, 2004).

1.2.4. Población microbiana en rumen

El metano y otros gases es producido fundamentalmente por microorganismos del rumen durante la fermentación (Santacoloma, 2011). Aunque existe gran cantidad de microorganismos en todo el sistema digestivo del rumiante, solo los del rumen mantienen una compleja simbiosis con el hospedero (Santacoloma, 2011). Las bacterias que se encuentran dentro de la flora microbiana, tales como *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Prevotella ruminicola*, *Ruminobacter amylophilus*, *Streptococcus bovis*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes* formalmente *Bacteroides succinogenes*, han sido expuestas a experimentos de efecto de crecimiento con relación a taninos condensados, por una serie de autores (Bae *et al.*, 1993; Jones *et al.*, 1994; McAllister *et al.*, 1994; Lopez *et al.*, 1999). La dinámica poblacional del ecosistema ruminal puede verse afectada por la composición de la dieta, un alimento rico en fibra puede favorecer el crecimiento de las bacterias celulolíticas como *Fibrobacter succinogenes* y *Ruminococcus*

flavefaciens, las que al degradar celulosa en polímeros más simples y generar ácidos grasos volátiles (AGV), contribuyen al metabolismo energético del rumiante (Hess *et al.*, 2003). Las bacterias metanogénicas utilizan diferentes sustratos para la producción de metano, pero los principales son H₂ Y CO₂; la eliminación de estos gases, principalmente del H₂ implica la remoción de un factor implicado en la estabilidad del pH ruminal, siendo este esencial para una óptima fermentación (Carmona *et al.*, 2005).

1.2.5. Estrategias nutricionales y su efecto sobre la producción de gases

Numerosos estudios señalan que las estrategias de alimentación que aportan nitrógeno fermentable, mejoran el desempeño productivo de los animales, contribuyen a reducir la producción de gas por unidad de carne o leche (Santacoloma, 2011). Las emisiones de metano que vienen del ganado bovino representan un 80% del total de aporte de todas las especies y la composición de la dieta tiene un efecto directo en esta contribución (Santacoloma, 2011).

Hay evidencias que muestran que la tasa de emisión de gases, por fermentación entérica, se relaciona con el alimento consumido; dietas altamente fibrosas y de baja digestibilidad aumentan las emisiones de gases y se genera una gran pérdida por esta vía (Santacoloma, 2011). La manipulación de las dietas en rumiantes se considera una alternativa viable para disminuir la producción de gases y con ello disminuir las pérdidas energéticas del animal (Carmona *et al.*, 2005). También se señala que entre los factores que influyen en su producción están las características físicas y químicas del alimento, las cuales afectan directamente el nivel de consumo y la frecuencia de alimentación; por tanto una subnutrición contribuye a incrementar los niveles de emisión de metano (Montenegro y Abarca, 2002). Cabe mencionar que es posible, mediante la modificación del manejo de pasturas, los niveles de emisión de gas en las explotaciones bovinas, independientemente de la zona ecológica donde estas se localicen (Cárdenas, 2012; Montenegro y Abarca, 2000). Como una de las fuentes de alimentación de los bovinos son las leguminosas, que por su misma naturaleza son capaces de sintetizar altos niveles de proteínas, con una menor tasa de disminución de

taninos con la edad de la planta; entre las características más sobresalientes de las leguminosas como fuente alimenticia podemos señalar que poseen taninos, como sistema de defensa, lo que contribuye en una óptima cantidad a proteger proteína y reducir la cantidad de metano producida en la fermentación ruminal (Cárdenas, 2012). Se han adelantado investigaciones con leguminosas taníferas, como el *Lotus uliginosus*, que reduce la emisión de gas a nivel entérico y mejora la productividad animal (Bernal y Suárez, 2011).

1.2.6. Efecto de los metabolitos secundarios de las plantas sobre la microflora ruminal y la emisión de gases

Las plantas producen de manera natural, compuestos biológicos que se clasifican como metabolitos primarios y secundarios (Cardona, 2017). Los primarios son los esenciales para el desarrollo, crecimiento y reproducción de las plantas (Bodas *et al.*, 2012). Mientras que los metabolitos secundarios principalmente son mecanismos de defensa, contra los depredadores, su presencia puede variar entre especies, así como también se determinan por la edad y tipo de planta y factores medioambientales (Bodas *et al.*, 2012; Pavarini *et al.*, 2012).

Existen cientos de metabolitos secundarios, que se agrupan según las sustancias químicas que los constituyen (Pavarini *et al.*, 2012). Los que se encuentran más relacionados con la disminución de gases entéricos en los bovinos se encuentran los taninos y las saponinas (CITA., 0000).

El efecto de los metabolitos secundarios de las plantas (MSP), sobre la microflora ruminal, depende de la composición química de cada planta y del pH ruminal (Patra y Saxena, 201).

1.2.7. Taninos

1.2.7.1. Generalidades

Los taninos son compuestos polifenólicos que tienen la habilidad de formar complejos con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, alcaloides y saponinas, influyendo ampliamente sobre el valor nutricional de las leguminosas forrajeras (Cárdenas, 2012). Los grupos flavonoides y no flavonoides, se pueden encontrar formando compuestos de muy alto peso molecular (>500 UMA), llamados en ambos casos taninos; sin embargo, cada grupo origina un tipo específico de taninos; los no flavonoides polimerizan para formar taninos hidrolizables, mientras que ciertos flavonoides, al polimerizar, forman taninos condensados. (Vázquez *et al.*, 2012). Los taninos no solo poseen un elevado peso molecular, sino además presentan suficientes grupos hidroxilo unidos a estructuras fenólicas que les confieren la característica de formar complejos con proteínas, minerales y otras macromoléculas (Vázquez *et al.*, 2012). La estructura química de los taninos varía cualitativa y cuantitativamente en vegetales y frutas; algunos taninos son comunes en el reino vegetal, unos son característicos de alguna fruta y otros de algún vegetal en específico (Vázquez *et al.*, 2012). Se unen fuertemente a proteínas ricas en aminoácidos como prolina, glicina, ácido glutámico y péptidos por dos interacciones importantes: puentes de hidrógeno (entre el grupo carbonilo de los péptidos y los hidrógenos del grupo hidroxilo de polifenoles) e interacción hidrofóbica (entre los aminoácidos neutros y los anillos aromáticos de los taninos); cabe señalar a este respecto que todas estas interacciones dependen de la preferencia de cada molécula de tanino para arreglarse tridimensionalmente, y de su estado coloidal (Vázquez *et al.*, 2012). Son polímeros fenólicos solubles en agua, que precipitan proteína, que tienden a formar complejos fuertes tanto con almidones y celulosa como con proteína, debido a que tienen muchos grupos hidroxilos fenólicos libres, que les permiten formar puentes de hidrógeno con los compuestos anteriormente mencionados, lo que le da más importancia desde el punto de vista nutricional y toxicológico. Se caracterizan por ser astringentes, su presencia en madera, hojas, raíces, se usan

en curtiembre, pueden formar complejos con macromoléculas como carbohidratos, proteínas y alcaloides (Cárdenas, 2012). A través del tiempo en el mundo, los taninos han tenido diversos usos como curtidores de piel, producción de tinta utilizada para teñir algunas telas como la seda así como también tinta para escribir, en la alimentación de rumiantes y como inhibidores del crecimiento bacteriano (Nogueira, 2011).

1.2.7.2 Taninos hidrolizables

Los taninos hidrolizables son polímeros de ácidos fenólicos unidos a polisacáridos como azúcares y fenoles, que provienen de esterificación de compuestos polifenólicos no flavonoides (Vázquez *et al.*, 2012). Estos son más susceptibles a la hidrólisis enzimática y no enzimática por lo tanto, más solubles en agua que los condensados (Cárdenas, 2012). Se clasifican según la hidrólisis como: Galotaninos, caracterizados por su producción de ácido gálico y Elagitaninos, que producen ácido elágico y glucosa (Cárdenas, 2012). La estructura química de estos taninos contiene distintas porciones de glucosa, poliol y esterificaciones cruzadas diversas; es debido a esta complejidad que los métodos de determinación suelen presentar inconvenientes; los taninos hidrolizables aunque se encuentran distribuidos ampliamente en plantas y son un parámetro muy importante de calidad de frutos, han recibido menos atención en lo que se refiere a la salud, esto posiblemente debido a las dificultades en su identificación, aislamiento, purificación y cuantificación (Vázquez *et al.*, 2012).

1.2.7.3 Taninos condensados

Los Taninos Condensados (TC) son polímeros flavonoides, que pueden ser oxidativamente degradados en ácido a antocianidinas (Otero e Hidalgo, 2004), provienen de la esterificación de compuestos polifenólicos flavonoides, como las catequinas o flavan-3-oles (Vázquez *et al.*, 2012), unidos por enlaces interflavones de carbono que no son susceptibles a hidrólisis. Los taninos condensados se

encuentran presentes en los tallos, las hojas e inflorescencias de diversas especies forrajeras. Este grupo de taninos interactúan con las proteínas formando complejos. En general, esta interacción es muy selectiva teniendo especial afinidad por aquellas de cadenas más largas y con prolinas ricas en proteínas. Producto de esta interacción las proteínas precipitan a un pH cercano a su punto isoeléctrico (Otero e Hidalgo, 2004). La facilidad de los TC de formar esos complejos es el aspecto más importante en sus efectos nutricionales y toxicológicos. La proteína no es degradada en el rumen, pero está disponible para la digestión en el abomaso e intestino delgado (Jones *et al.*, 1994). En un rango de pH de entre 5 y 7.5 en el rumen, la proteína permanece unida a los taninos, pero a pH bajos (pH < 3.5) la proteína es liberada (Otero e Hidalgo, 2004). Los taninos condensados se encuentran principalmente en plantas dicotiledóneas, las plantas herbáceas tienen a menudo TC en las semillas, por ejemplo alfalfa, semillas de algodón, porotos y en los pétalos de las flores (Otero e Hidalgo, 2004; Carmona, 2007).

1.2.7.4. Efecto de taninos en nutrición y producción de gas

Los taninos son compuestos fenólicos que en una cantidad adecuada protegen la proteína de la acción bacteriana del rumen, y se puede degradar a nivel intestinal, siendo aprovechada directamente por el bovino (Jones *et al.*, 1994; Cárdenas, 2012). Además, existen reportes que pueden llegar a disminuir la cantidad de metano producida por la fermentación ruminal (Bernal *et al.*, 2008; Cárdenas, 2012). Así mismo, la inclusión de plantas taniníferas podría generar un efecto positivo adicional en la producción animal, al disminuir la producción de metano (Montenegro y Abarca, 2002). Murillo (2013), reporta la disminución de la producción de gas bruto en las heces de bovinos de engorda, al adicionar 2% (BH) de extracto de taninos a las heces de manera *in vitro*.

En cuanto a los efectos de los taninos sobre la nutrición de rumiantes, puede ser negativo o positivo, según la cantidad y tipo de taninos consumida; los taninos en altas concentraciones reducen el consumo, digestibilidad de la proteína y

carbohidratos y el desarrollo de los rumiantes (Cárdenas, 2012). En cambio las bajas y moderadas concentraciones de estos compuestos “no deseables en nutrición animal”, pueden tener un efecto benéfico como prevenir el timpanismo, e incrementar el flujo de nitrógeno no amoniacal y aminoácidos esenciales del rumen hacia el intestino delgado y reducir la producción de metano (Bernal *et al.*, 2008; Cárdenas, 2012).

Los efectos de los taninos en rumiantes, se debe a la mayor retención de nitrógeno, aumentando el flujo de aminoácidos esenciales del rumen al intestino delgado, por consecuencia aumenta el flujo de proteína *by pass* y la eficiencia de la utilización de esta por parte de los rumiantes, con factores determinantes como tamaño de molécula, composición de aminoácidos, peso molecular de la proteína y pH; por lo tanto, a mayor tamaño de proteína los enlaces son más estables (Bae *et al.*, 1994). Al efectuarse la formación de complejos proteína-taninos, en presencia del pH neutro en el rumen, la proteína está protegida de las enzimas bacterianas, las cuales no pueden hidrolizarlo; estos complejos, en cambio, son inestables ante el pH ácido abomasal, por lo tanto la proteína será hidrolizada y estará disponible para el uso directo en el metabolismo y/o producción del rumiante, pero si la cantidad de taninos es un poco más alta, simplemente esta proteína no es digerida y se excretará en la heces (Bae *et al.*, 1994; Jones *et al.*, 1994; Cárdenas, 2012). Los taninos pueden incrementar la eficiencia del reciclaje de la urea en el rumen, ya que aumentan el contenido de glicoproteínas y la excreción de saliva, lo cual da lugar a mayor cantidad de N reciclado al rumen y una menor cantidad de metano producido (Bernal *et al.*, 2008).

Los estudios presentes en muchas leguminosas, como *Calliandra calothyrsus*, pueden estar asociados con la reducción en la producción de CH₄, hasta en un 50% respecto a las tradicional de pasto solo (Hess *et al.*, 2002). Relacionado con lo anterior Bernal *et al.* (2008), se compararon varios ensilajes y henos con base en especies como *Calliandra calothyrsus*, *Flemingia macrophylla*, *Cratylia argentea*, leguminosas con altos contenidos de taninos, vs materiales ensilados de *Vigna unguiculata* (leguminosa sin taninos), las cuales fueron evaluadas *In vitro*,

por medio del sistema de simulación Rusitec, para evaluar producción de gas metano y digestibilidad, donde se encontró menor producción de metano en las dietas con más cantidad de taninos, siendo inversa la proporción entre la cantidad de taninos y la producción de metano.

En un estudio realizado por Molina *et al.* (2013), a través de la técnica *in vitro* de producción de gases, incubaron Leucaena (*Leucaena leucocephala*) y pasto Guinea (*Megathyrsus maxumus*); donde la producción CH₄ fue 36% menor para el tratamiento de Leucaena en relación con el pasto Guinea, el efecto fue atribuido al contenido de taninos concentrados en la Leucaena.

Según Lascano y Cárdenas, (2010), varios estudios han demostrado que algunas leguminosas presentan metabolitos secundarios (taninos condensados) que posiblemente reducen la metanogénesis. Lo anterior explica porque los taninos como compuestos fenólicos pueden ser tóxicos para los microorganismos del rumen, especialmente protozoarios ciliados, bacterias degradadoras de fibra, bacterias metanogénicas y por consecuencia el uso de estas plantas disminuye la producción de gas.

1.3. CONCLUSIONES

Los taninos pueden contribuir sustancialmente a la disminución en la producción de gas dentro del rumen, sin embargo, factores como el tipo de taninos, su estructura química, son de importancia y determinan el grado de actividad que estos compuestos pueden presentar.

Se presume que pueden cumplir una función similar en la disminución en la producción de gases de las heces de los bovinos a partir de su degradación.

1.4.LITERATURA CITADA

- Adeola, O. 1999. Nutrient management procedures to enhance environmental conditions: An introduction. *J. Anim. Sci.* 77:427-429.
- AOAC.1995. Official Methods of Analysis (16 th Ed). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Archibeque, S.L., D.N. Miller, H.C. Freetly, and C.L. Ferrell. 2006. Feeding high-moisture corn instead of dry-rolled corn reduces odorous compound production in manure of finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 84:1767-1777.
- Bae, H.D., T.A. McAllister, J. Yanke, K.J. Cheng, and A.D. Muir. 1993. Effects of condensed tannins on endoglucanase activity and filter paper digestion by *Fibrobacter succinogenes* S85. *Applied and Environmental Microbiology.* 59:2132-2138.
- Bernal, L., P. Avila, G. Ramírez, C.E. Lascano, T. Tiemann y H. Hess. 2008. Degradación de nutrientes y emisión de gases al fermentar ensilaje y heno de *Calliandra calothyrsus* y *Vigna unguiculata* en el Sistema Rusitec. *Asociación Latinoamericana de Producción Animal.* 16:199-204.
- Bernal, L., R.A. Suárez. 2011. La producción de forraje en el contexto del cambio climático. *Rev. Cienc. Anim.* 4:7-14.
- Cárdenas, P. A. 2012. Efectos de los taninos encontrados en las leguminosas tropicales utilizadas en la nutrición de rumiantes. *Revista PECUS Colombia.* 3:33-39. Disponible en: <http://www.corhuila.edu.co>
- Carmona, J. C., D.M. Bolívar y L .A. Giraldo. 2005. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 18:49-63.
- Dhanao, M.S., J. France, L.A. Crompton, R.M. Mauricio, E. Kebreab, J.A.N. Mills, R. Sanderson, J. Dijkstra, and S. López. 2004. Thechnical note: A proposed method to determine the extent of degradation of a feed in the rumen from the degradation profile obtained with the in vitro gas production technique using feces as the inoculum. *J. Anim. Sci.* 82:733-746.

- García, E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 3ª ed. Mexico DF.
- Gobierno del estado de Sinaloa. 2011. Ley de Acceso a la Información Pública. Disponible en: www.laip.sinaloa.gob.mx/LAIP
- Gobierno del estado de Sinaloa. 2011. Ley de Acceso a la Información Pública. Disponible en: www.laip.sinaloa.gob.mx/NR/exceres/10DEOOA-E44-43-43C5-BADE.htm
- Hess, H.D., L.M. Monsalve, C.E. Lascano, J.E. Díaz, T.E. y M. Kreuzer. 2003. Supplementation of a tropical grass diet with forage legumes and *Sapindus saponaria* fruits: effects on in vitro ruminal nitrogen turnover and methanogenesis. *Australian Journal of Agricultural Research*. 54:703-713.
- Hicks, C.R. 1973. *Fundamental Concepts in the Design of Experiments*. Holt, Reinhart and Wiston, New York.
- INEGI, 2000. Anuario Estadístico del Estado de Sinaloa. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática. Aguascalientes, Ags. México.
- INEGI, 2009. Anuario Estadístico del Estado de Sinaloa. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática. Aguascalientes, Ags. México.
- IPCC. 1996. *Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories: Reference Manual*.
- Jones, G.A., T.A. McAllister, A.D. Muir, and K.J. Cheng. 1994. Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 60:1374-1378.
- Kern, D.L., L.L. Slyter, and E.C. Leffel. 1974. Ponies vs. steers: microbial and chemical characteristics of intestinal digesta. *J. Anim. Sci.* 38:559-564.
- Lascano, C., E. Cárdenas. 2010. Alternatives for methane emission mitigation in livestock systems. *R. Bras. Zootec.* 39:175-182.
- Lopez, S., F.M. McIntosh, R.J. Wallace and C.J. Newbold. 1999. Effect of adding acetogenic bacteria on methane production by mixed rumen microorganisms. *Animal Feed Science and Technology*. 78:1-9.

- Mahecha, L. 2002. El silvopastoreo: una alternativa de producción que disminuye el impacto ambiental de la ganadería bovina. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 15:226-231.
- McAllister, T.A., C.J. Newbold. 2008. Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. *Australian Journal of Experimental Agriculture.* 48:7-13.
- McAllister, T.A., H.D. Bae, G.A. Jones, and K.J. Cheng. 1994. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *J. Anim. Sci.* 72:3004-3018.
- Miller, D. N. and V. H. Varel. 2001. In vitro study of the biochemical origin and production limits of odorous compounds in cattle feedlots. *J. Anim. Sci.* 79:2949-2956.
- Miller, D. N., E. D. Berry, J. E. Wells, C. L. Ferrell, S. L. Archibeque, and H. C. Freetly. 2006. Influence of genotype and diet on steer performance, manure odor, and carriage of pathogenic and other fecal bacteria. III. Odorous compound production. *J. Anim. Sci.* 84:2533-2545.
- Montenegro, J., S. Abarca. 2000. Fijación de carbono, emisión de metano y de óxido nitroso en sistemas de producción bovina en Costa Rica. *Intensificación de la ganadería en Centroamérica: Beneficios económicos y ambientales.* Cap. 10. Ed: Pomareda C. y Steinfeld, H. CATIE, FAO, SIDE. Pag. 151-171.
- Montenegro, J., S. Abarca. 2002. Los sistemas silvopastoriles y el calentamiento global: un balance de emisiones. *Agronomía Costarricense.* 26:17-24.
- Nogueira, S.C. 2011. Suplementación con mezcla comercial de taninos de quebracho y castaños en vacas lecheras. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Católica Argentina (fecha de consulta Octubre de 2012). <http://bibliotecadigital.uca.ar/respiratorio/tesis/suplementacion-mezcla-comercial-taninos-quebracho.pdf>.
- Otero, M.J., Hidalgo, L. G. 2004. Taninos condensados en especies forrajeras de clima templado: efectos sobre la productividad de rumiantes afectados por parasitosis gastrointestinales (una revisión). *Livestock Research for Rural Development.* 16:1-22.

- Patra, A.K., and J. Saxena. 2011. Exploitation of dietary tannins to improve Rumen metabolism and ruminant nutrition. *J Sci Food Agric.* 91: 24–37.
- Primavesi ,O., R.T. Shiraishi, M.S. Pedreira, M. Aparecida, T.T. Berchielli y P.F. Barbosa. 2004. Metano entérico de bovinos leiteiros em condicoes tropicais brasileiras. *Pesq. Agropec. Bras.* 39:277-283.
- SAGARPA. 2011. Disponible en:
www.sagarpa.gob.mx/estadisticas/ganaderia/paginas/default.aspx
- Santacoloma, L.E. 2011. Las dietas en las emisiones de metano durante el proceso de rumia en sistemas de producción bovina. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental.* 2:55-64.
- SIAP. 2011. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesca. SAGARPA.
Disponible en: www.siap.gob.mx
- Statistix. 2007. Statistix User's Manual, Release 9.0. Analytical Software, Tallahassee, FL.
- Vázquez, A.A., E. Álvarez, J.A. López, A. Wall y L.A. De la rosa. 2012. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia Chihuahua.*6:84-93.

CAPÍTULO 2. PRODUCCIÓN DE GAS EN HECES BOVINAS AÑADIENDO TANINOS DIRECTAMENTE O EN LA DIETA

Este capítulo se publicó en la Revista Abanico Veterinario Vol. 9: 1-12. Julio de 2019.

2.1. RESUMEN

Se realizaron dos experimentos para conocer el efecto de los extractos de taninos (ET) en la producción de gas. En el experimento 1 se colectaron heces de cinco toretes (420 ± 10 kg) de un mismo corral durante cuatro días consecutivos para tener una muestra por día, 100 g de las heces se colocaron en frascos de 600 mL para cada muestra y se adicionaron los siguientes tratamientos: TE) heces sin tratar y HT) 7.4% de ET condensados. En el experimento 2 se aplicaron los siguientes tratamientos: TES) dieta sin ET, TC) 0.6% de taninos condensados y TH) 0.6% de taninos hidrolizables a la dieta de 18 becerros (220 ± 9 kg) durante 28 días. En los dos experimentos las heces obtenidas se incubaron durante 24 h para medir su producción de gas por desplazamiento. Los datos obtenidos de gas se compararon con Diseño experimental de bloques al azar para eliminar el efecto día de muestreo. En el primer experimento la producción de gas disminuyó 44% ($P < 0.001$) con los extractos de taninos adicionados sobre las heces, pero adicionados a través de la dieta no hubo diferencias entre los tratamientos.

Palabras clave: extracto de taninos, heces, producción de gas, bovinos en engorda.

ABSTRACT

To determine the influence of tannins extract (TE) addition on gas production from beef-cattle feces, two experiment was perform it. Experiment 1, fecal samples were collected during four consecutive days from five bullocks placed in a pen, and pulled sample/day was integrated, feces (100 g) was placed in 600 mL flasks and in a complete block design were randomly assigned treatments: 1) Feces without

TE addition (Control), and 2) Addition dry matter basis (DB) of 7.4% of condensed TE (CT). The feces were incubated 24 h, and *in vitro* gas production measured, results were analyzed by ANOVA. CT addition decreased 44% gas production ($P < 0.001$). Experiment 2, eighteen calves were used in a complete randomized block design, and treatments were: 1) Diet without TE (Control), 2) Control plus 0.6% DB of CT, and 3) Control plus 0.6% DB of hydrolysable TE (HT). Treatments were added to diet during 28 d: Feces from each calf was incubated 24 h and gas production measured. Data was analyzed by ANOVA. TE addition does not modify gas production ($P > 0.50$). Results indicate that gas production decreases with addition of TE to feces of bovines, but not when TE is included in the diet.

Keywords: tannins extract, feces, gas production, beef-cattle.

2.2. INTRODUCCIÓN

El manejo de las excretas y el aumento en el tamaño de las instalaciones de bovinos en confinamiento se relaciona cada vez más con el impacto al medioambiente (Adeola, 1999; Kebreab *et al.*, 2009; Cardona-Iglesias, 2016), por consecuencia la reducción de la emisión de sólidos, líquidos y gases son factores que presionan a la ganadería intensiva (Archibeque *et al.*, 2006; Grainger y Beauchemin, 2011). Los gases producidos por la volatilización de las sustancias orgánicas de las heces de los bovinos contribuyen a la diseminación de olores indeseables en el ambiente (Varel y Miller, 2000; Shabtay *et al.*, 2009). Una alternativa para disminuir la cantidad de gases producidos por las heces de los bovinos en engorda, es mediante el uso de taninos (Cardona-Iglesias, 2016; Barros-Rodríguez *et al.*, 2017). Los taninos son compuestos polifenólicos, producto del metabolismo secundario de una amplia variedad de plantas (Frutos *et al.*, 2004; Vélez-terranova *et al.*, 2014) que se relaciona con la protección contra infección, insectos o animales herbívoros (Duval y Averous, 2016). Los taninos se clasifican en dos grupos: taninos hidrolizables y taninos condensados (Frutos *et al.*, 2004; Vazquez *et al.*, 2012; Kardel *et al.*, 2013). Los extractos de taninos (ET)

modifican la fermentación en el rumen y reducen la producción de gas (Bernal *et al.*, 2008; Lascano y Cárdenas, 2010; Cárdenas, 2012). Los ET tienen la capacidad de unirse a las proteínas de la membrana celular de las bacterias, cambian su estructura, función, e inhiben su capacidad de unirse a las partículas de alimento y la fermentación de sus nutrientes (Cárdenas, 2012; Barros-Rodríguez *et al.*, 2017). Con base en lo anterior se planteó la hipótesis que la adición de extracto de taninos tanto condensados como hidrolizables disminuye la cantidad de gas producida a partir de las heces de los bovinos en engorda. Por lo tanto, el objetivo de la investigación fue determinar la influencia de la producción de gas en heces de bovinos en engorda adicionando taninos directos o sobre la dieta.

2.3. MATERIAL Y MÉTODOS

La presente investigación estuvo constituida por dos experimentos, ambos se realizaron en la Unidad Experimental para Bovinos en Engorda en Trópico Seco localizada en la engorda comercial Ganadera Los Migueles, S.A. de C.V. (24° 51' N, y 107° 26' O) y en el laboratorio de Investigación en Nutrición y Producción Animal de la FMVZ de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ambos ubicado en Culiacán, Sinaloa. Todos los animales usados en la investigación fueron manejados siguiendo recomendaciones internacionales para el cuidado de los animales utilizados en investigación (FASS, 2010).

2.3.1. Experimento 1. En este experimento se evaluó la influencia de la adición de extracto de taninos directamente a las heces de bovinos en engorda sobre la producción de gas *in vitro*. Se utilizaron cinco toretes Brahman (420 ± 10 kg) alojados en un corral con piso de tierra (6 x 12 m) con 24 m² de techo metálico que proporcionó 4.8 m² de sombra por cada torete, 2.4 m de comedero lineal de concreto y 0.6 m de bebedero con acceso permanente de agua limpia y fresca para los animales.

Durante 60 días antes de tomar las muestras de las heces, los toretes fueron alimentados a libre acceso con una dieta de finalización que tuvo una proporción 10:90 de forraje:concentrado (13.6% PC; 2.1 Mcal EN_m), formulada con rastrojo de maíz, pasta de soya y grano de maíz molido (Cuadro 1). Una vez adaptados perfectamente a la dieta, durante cuatro días continuos se tomaron muestras de heces obtenidas del recto de cada uno de los toretes (± 200 g), las muestras se mezclaron en una licuadora durante 5 min para obtener una muestra compuesta para cada uno de los cuatro días de muestreo.

De la muestra compuesta de heces, se tomaron alícuotas de 20 g para determinar el contenido de materia seca (MS) en estufa de aire forzado a 105 °C durante 24 h (AOAC, 1997).

Por separado, 400 g de heces se dividieron en 2 partes de 200 g, a cada una se le adicionaron 200 g de H₂O destilada y de manera aleatoria se asignaron a uno de los dos tratamientos que se describen a continuación: 1) heces solas sin la adición de extracto de taninos (Testigo); y 2) heces adicionadas con 7.4% de extracto de taninos condensados en base hidratada (TC). Los TC fueron proporcionados utilizando Bypro ® (INDUNOR; Buenos Aires, Argentina) una preparación a base de extracto de taninos condensados del árbol de quebracho rojo con un contenido promedio de 75% de taninos condensados.

Durante los cuatro días, 100 g de la mezcla homogenizada de heces con agua de cada uno de los tratamientos se colocaron en frascos de 600 mL con tapón de rosca acondicionados con un tubo colector de gas (Tygon®; Saint-Gobain; Francia) colocados en baño María a 37 °C. En el extremo opuesto del tubo se colocó una probeta de vidrio graduada de 250 mL llena con agua destilada colocada en posición invertida dentro de un baño de agua (Miller y Varel 2001; Miller *et al.*, 2006) identificada con los datos del tratamiento respectivo. Las muestras se incubaron durante 24 h y la producción de gas se expresó en mL como la cantidad de agua desplazada por el gas dentro de cada probeta (Miller y Varel 2001; Miller *et al.*, 2006).

Cuadro 1. Composición de las dietas utilizadas en los experimentos de producción de gas de las heces.

Ingredientes	Proporción en la dieta, % en BS	
	Experimento 1	Experimento 2
Ensilado de maíz	-	46.11
Rastrojo de maíz	10.24	25.33
Maíz molido	68.57	-
Pasta de soya	7.17	16.28
Melaza de caña	6.82	8.29
Sebo	4.50	-
Ganamin Total Sinaloa [¶]	-	2.61
Ganamin Los Migueles [§]	2.70	-
Ganabuffer ^ᵖ	-	1.38
Total	100%	100%
Análisis calculado (en base seca) [†]		
PC,%	13.60	15.21
ENm, Mcal kg ⁻¹	2.113	1.358
ENg, Mcal kg ⁻¹	1.438	0.793

[¶] Ganamin Total Sinaloa (premezcla de vitaminas y minerales; Técnica Mineral Pecuaria S.A. de C.V.; Guadalajara, Jalisco, México). Contienen 68% PC como NNP y 25 g de monensina sódica (Rumensin 200[®]; ElancoAnimal Health).

[§] Ganamin Los Migueles (premezcla de vitaminas y minerales; Técnica Mineral Pecuaria S.A. de C.V.; Guadalajara, Jalisco, México). Contienen 112% PC a como NNP y 25 g de monensina sódica (Rumensin 200[®]; Elanco Animal Health, Indianapolis, IN, USA).

^ᵖ Ganabuffer (premezcla de amortiguadores del pH; Técnica Mineral Pecuaria S.A. de C.V.; Guadalajara, Jalisco, México).

[†] Valores calculados con base a valores publicados NASEM, 2016.

2.3.2. Experimento 2. En este experimento se evaluó la influencia del consumo de dietas adicionadas con extracto de taninos condensados e hidrolizables en la producción de gas en las heces de bovinos en engorda.

Se utilizaron 18 becerros Brahman (220 ± 6 kg) recién llegados al corral de engorda; al momento de su arribo al corral de engorda, los becerros fueron identificados con aretes plásticos numerados, pesados individualmente y recibieron bacterinas para prevenir enfermedades causadas por *Clostridia*, *Histophilus somni* (Ultrabac-sumnovac; Zoetis) y *Mannheimia haemolytica* (OneShot; Zoetis). En grupos de tres becerros, los animales fueron alojados en seis corraletas con piso de tierra (6 x 12 m), con 24 m² de techo metálico que proporciona 8 m² de sombra por cada becerro, 2.45 m de comedero lineal de concreto y 0.6 m de bebedero con acceso permanente de agua limpia y fresca para los animales. Los becerros fueron alimentados en condiciones de libre acceso con una dieta de crecimiento con proporción 70:30 de forraje:concentrado (15% PC; 1.4 Mcal EN_m), formulada con ensilado de maíz, pasta de soya y grano de maíz molido (Cuadro 1). Los animales tuvieron un periodo de adaptación de 21 d a la dieta, interacción social y manejo experimental. Después de los 21 d del periodo de adaptación, se tomaron muestras de heces directamente del recto de cada becerro, durante tres días consecutivos. Las muestras de heces se manejaron de forma individual, colocadas en bolsas de plástico, identificadas con el número del becerro y día de muestreo; las heces fueron transportadas inmediatamente al laboratorio, donde se midió la producción de gas *in vitro* con un procedimiento similar al descrito en el Experimento 1.

Una vez obtenidas las muestras de heces, los becerros fueron asignados aleatoriamente a uno de tres tratamientos: 1) dieta de crecimiento sin ET (Testigo); 2) Testigo más 0.6% en base seca de extracto de taninos condensados (TC); y 3) testigo más 0.6% en base seca de extracto de taninos hidrolizables (TH). El TC fue proporcionado en forma de un extracto de taninos condensados del árbol de quebracho (*Schinopsis balansae*), disponible en el mercado como Bypro[®] (INDUNOR, S. A.; Buenos Aires, Argentina); y el TH se proporcionó a partir de un

extracto de taninos de castaño (*Castanea sativa*), fue proporcionado como NutiP[®] (SilvaTeam; San Michele Mondavi, Italia); ambos extractos con un contenido de 75% de taninos.

La dosis diaria correspondiente de TC y TH de acuerdo al tratamiento asignado por corral, se dispersaron en 1000 g de maíz molido. Después se mezcló y homogenizó manualmente durante cinco minutos en el interior de una bolsa de plástico transparente (etiquetado con el número del corral y tratamiento); la mezcla de maíz molido con el ET correspondiente se adicionó en el comedero de cada corral al momento de servir el alimento (11:00 h), se mezcló manualmente con el alimento contenido en el tercio superior del comedero (procedimiento Top dress). En los corrales asignados al tratamiento testigo se les ofreció diariamente 1000 g de maíz molido para igualar el manejo de la alimentación y la ingesta de energía con el resto de los animales involucrados en el experimento. Los becerros fueron alimentados durante 28 d con sus respectivos tratamientos; una vez completado este periodo, nuevamente se tomaron muestras de heces de cada becerro durante tres días consecutivos con el procedimiento descrito anteriormente. Las heces se colocaron en bolsas de plástico, cerradas, identificadas y transportadas al Laboratorio para medir la producción de gas *in vitro* como en el procedimiento antes descrito en el Experimento 1; constituyendo cada día una corrida independiente, que a su vez conformó un bloque y los frascos fermentados con las heces de cada animal en cada corrida constituyeron la unidad experimental.

2.3.3. Análisis estadístico

Los datos de desplazamiento obtenidos en los dos experimentos se analizaron con un diseño estadístico de bloques al azar consideran el día de muestreo como bloque (Hicks, 1973). Para los cálculos estadísticos se usó el programa Statistix[®] versión 9 (Analytical Software, 2007) y el modelo matemático fue: $Y_{ijk} = \mu + \beta_i + \tau_j + \epsilon_{ijk}$

2.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.4.1. Experimento 1. Los resultados de la influencia de la adición de extracto de taninos a las heces de bovinos en la producción de gas *in vitro* se presentan en el Cuadro 2. La adición de 7.4% de TC (BS) a las heces de bovinos redujo en 45% ($P<0.001$) la producción de gas *in vitro*.

Cuadro 2. Influencia de la adición de extracto de taninos a las heces de bovinos en la producción de gas *in vitro* (Experimento 1).

Variables	Tratamientos		EEM [†]	P<
	Testigo	Taninos		
Extracto de taninos, g §				
Gramos ET muestra ⁻¹	0.00	1.003		
% de las heces, BH	0.00	2.00		
% de las heces, BS	0.00	7.41		
MS de las heces §	26.90	26.90	0.532	1.00
Muestra de heces §				
g (por frasco BH)	50.20	50.29	0.037	0.12
g (por frasco BS)	13.50	13.53	0.010	0.12
Producción de gas §				
Total, en 24 h, mL	218.33	121.33	7.636	< 0.001
Por g de heces BH, mL	4.35	2.41	0.153	< 0.001
Por g de heces BS, mL	16.24	8.92	0.603	< 0.001

[†] Error estándar de la media

§ Valores promedio de 12 observaciones.

De acuerdo con la hipótesis planteada, la disminución en la cantidad de gas producida en las heces de los bovinos a las que les fueron adicionados TC, es una respuesta esperada, considerando que las bacterias degradan los componentes de la materia orgánica, y por consecuencia de su metabolismo son productoras de gas (Dhanao *et al.*, 2004). Cuando estos microorganismos están en contacto con los taninos condensados se unen a las proteínas de la membrana celular de las bacterias, inhiben su capacidad de ligarse a los sustratos, reducen la fermentación de los nutrientes y la producción de gas (Bae *et al.*, 1993; Jones *et al.*, 1994; Cárdenas, 2012).

Dhanao *et al.* (2004) probaron la utilidad de usar heces de bovino como inóculo en lugar de emplear líquido ruminal para desarrollar la prueba de fermentación *in vitro*; por lo que es posible inferir que la tendencia en los procesos de fermentación es similar con ambos tipos de inóculos, aunque la magnitud de la respuesta es más baja cuando se utilizan heces dada la menor cantidad de células microbianas por gramo de inóculo. Con base en lo anterior, el comportamiento fermentativo de las bacterias presentes en las heces como resultado de la adición de ET, es explicable en los mismos términos que cuando este fenómeno se ha apreciado utilizando como inóculo líquido ruminal.

En una serie de estudios *in vitro* se atribuyó una disminución en la producción de gas por parte de los microbios del rumen a la presencia de taninos en varias especies de leguminosas tropicales (Carmona *et al.*, 2005; Bernal *et al.*, 2008; Cardenas, 2012). De igual manera, la adición de diferentes tipos de TC provenientes de *Leucaena leucocephala* disminuyeron la producción de gas *in vitro* en relación directa con su peso molecular cuando se utilizaron microbios ruminales como inóculo (Huang *et al.*, 2011); por lo que en el presente experimento, la menor producción de gas en las heces a las que se les adicionaron los TC, es presumible que se debe a la acción inhibitoria de los taninos en la actividad microbiana debido al daño estructural que produce en la membrana celular, especialmente en las bacterias Gram-negativas (Bae *et al.*, 1993; Jones *et al.*, 1994). Otros investigadores Gilroyed *et al.* (2015) apreciaron

una disminución en la población de bacterias y protozoarios, así como en la producción de gas de heces de bovinos cuando se adicionaron a la dieta 2.5% de taninos condensados de acacia negra (*Acacia mearnsii*).

2.4.2. Experimento 2. Los resultados de la influencia de la adición de extracto de taninos a la dieta en la producción de gas de las heces de becerros se presentan en el Cuadro 3. La adición de 0.6% de ET a la dieta no modificó la producción de gas en las heces. Estos resultados indican que cuando los TC de quebracho o los TH de castaño se adicionan a la dieta en proporciones menores al 1%, no inducen cambio alguno en la cantidad de gas producido a partir de las heces, a diferencia de lo que se encontró en el Experimento 1, en el cual la adición de 7.4% de TC (BS) directamente a las heces después de ser excretadas, disminuyó la producción de gas.

Una probable explicación del resultado, es que los taninos a su paso por el aparato digestivo de los bovinos, pueden presentar interacciones; primero con los componentes iniciales de la dieta y después con los productos de la digestión, ya que los taninos tienen dependencia del pH para expresar o no su capacidad para enlazar proteínas de manera estable (Jones *et al.*, 1994). Cuando los taninos son ingeridos, en el rumen se forman complejos tanino-proteína estables el intervalo de pH 3.5 a 7.0 (Makkar, 2003; Beserra *et al.*, 2011), pero se disocian en abomaso y duodeno, donde el pH en bovinos de engorda es generalmente <3.0 (Frutos *et al.*, 2004; Jones *et al.*, 1994).

Cuadro 3. Influencia de la adición de extracto de tanino a la dieta en la producción de gas de las heces de becerros (Experimento 2).

Variables	Tratamientos [†]			EEM [¶]	P<
	Testigo	TC [†]	TH [†]		
Producción de gas, mL [§]					
Producción previa	36.0	40.9	40.1	3.681	0.57
Producción posterior	48.5	56.1	49.1	4.854	0.43
Diferencia entre periodos	12.5	15.2	9.0	6.360	0.78
Producción de gas, mL g de MS ⁻¹ [§]					
Producción previa	4.36	5.07	4.80	0.447	0.53
Producción posterior	5.60	6.36	5.85	0.486	0.54
Diferencia entre periodos	1.25	1.29	1.05	0.672	0.97

[†] TC = Extracto de taninos condensados; TH = Extracto de taninos hidrolizables.

[¶] Error estándar de la media.

[§] Valores promedio de 18 observaciones.

A medida que el quimo avanza en el intestino delgado, el pH se eleva gradualmente debido a varias secreciones (Owens *et al.*, 1986; Brake *et al.*, 2014), en especial las provenientes del páncreas con concentraciones altas de iones bicarbonato (Huntington *et al.*, 2016). En medios en los que los valores de pH oscilan de ligeramente alcalinos a ligeramente ácidos como los que prevalecen en el íleon e intestino grueso (Owens *et al.*, 1986; Brake *et al.*, 2014), es factible que los taninos formen de nuevo complejos con componentes no digeridos de la dieta, y con proteínas endógenas de las secreciones digestivas (Frutos *et al.*, 2004; Bae *et al.*, 1993). De esta manera, al momento en que los taninos en la cantidad utilizada en este experimento arribaron al intestino grueso, probablemente ya se encontraban asociados a otros sustratos y por lo tanto, no estaban disponibles para formar nuevos complejos con las proteínas de la membrana celular de las bacterias presentes en este órgano, en consecuencia no modificaron su actividad fermentativa. En ese mismo sentido, al ser excretado el bolo fecal, los taninos se

encontraron previamente ligados a otras sustancias e imposibilitados para unirse con las proteínas de las bacterias fecales, por lo que bajo estas circunstancias los taninos no son capaces de modificar la producción de gas en las heces de los bovinos.

Otra posibilidad, es que el nivel de inclusión de los taninos en la dieta de 0.6% BS del extracto en el experimento actual, haya sido insuficiente para permitir mostrar su actividad, comparado con la cantidad cuatro veces mayor de TC de acacia negra (*Acacia mearnsii*) que Gilroyed *et al.* (2015) utilizaron en un experimento de metabolismo ruminal en el que encontraron una disminución en la producción de gas en las heces cuando adicionaron 2.5% de TC de acacia. Sin embargo, los autores (Gilroyed *et al.*, 2015) no describen el impacto de ese nivel de taninos en el consumo de materia seca y la digestibilidad de la dieta en los bovinos que emplearon.

En el actual experimento, se limitó la cantidad máxima de taninos a ofrecer a un nivel en el que no se viera afectado el consumo de alimento (0.6%), dado que los becerros se encontraban bajo condiciones de alimentación similares a las que se utilizan en la industria con el propósito que los resultados pudieran tener aplicación práctica en la producción de carne de bovinos. De manera general, se considera el nivel de 1.5% como el umbral máximo de taninos presentes en la dieta de los rumiantes y que cuando se proporcionan taninos hidrolizables en concentraciones mayores los metabolitos productos de la hidrólisis de los taninos en el rumen pueden ser absorbidos a la sangre y afectar negativamente a otros órganos (Makkar, 2003).

Henke *et al.* (2016) encontraron que la adición de 1.5% o más de TC de quebracho en la dieta de vacas lecheras afectó negativamente la digestibilidad de los diversos componentes de la misma. El consumo de taninos en cantidades equivalentes al 2% de la dieta es suficiente para inducir efectos indeseables como una disminución en la digestibilidad de la proteína de la dieta (Beauchemin *et al.*, 2007). Aunque existen reportes de otros autores (Krueger *et al.*, 2010; Ebert *et al.*, 2017), que adicionan entre 1 y 1.5% de taninos a la dieta y no modifican el consumo voluntario ni la respuesta productiva en bovinos de engorda.

2.5. CONCLUSIÓN

La adición directa de taninos en las heces de los bovinos disminuye su producción de gas; sin embargo, cuando son incluidos como parte de la dieta ofrecida a los bovinos, carecen de impacto en la producción de gas de a partir de las heces de bovinos en engorda.

2.6. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Ganadera Los Migueles, S.A. de C.V., a su Director Ing. Regulo Terraza Romero y al Gerente de Producción MVZ Billy Josué Cervantes Pacheco por las facilidades otorgadas en el uso de animales e instalaciones para la realización del presente trabajo.

2.7. LITERATURA CITADA

ADEOLA O. 1999. Nutrient management procedures to enhance environmental conditions: An introduction. *Journal of Animal Science*. 77:427-429. DOI: 10.2527/1999.772427x

ANALYTICAL SOFTWARE. Statistix User's Manual, Release 9.0. Analytical Software, Tallahassee, FL. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.040>

AOAC. Official methods of analysis. 16th ed. Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemists. 1997

ARCHIBEQUE SL, Miller DN, Freetly HC, Ferrell CL. Feeding high-moisture corn instead of dry-rolled corn reduces odorous compound production in manure of finishing beef cattle. *Journal of Animal Science*. 2006; 84,1767-1777. DOI: 10.2527/jas.2005-448

BAE HD, McAllister TA, Yanke J, Cheng KJ, Muir AD. Effects of condensed tannins on endoglucanase activity and filter paper digestion by *Fibrobacter succinogenes* S85. *Applied and Environmental Microbiology*. 1993; 59,2132-2138. DOI: 0099-2240/93/072132-07

BARROS-RODRÍGUEZ M, Oña-Rodríguez J, Mera-Andrade R, Artieda-Rojas J, Curay-Quispe S, Avilés-Esquivel D, Solorio-Sánchez J, Guishca-Cunuhay C. Degradación ruminal de dietas a base de biomasa pos-cosecha de *Amaranthus cruentus*: efecto sobre los protozoos del rumen y producción de gas *in vitro*. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 2017; 28,812-821. DOI: 10.15381/rivep.v28i4.13931

BEAUCHEMIN RA, McGinn SM, Martinez TF, McAllister TA. Use of condensed tannins extract from quebracho trees to reduce methane emission from cattle. Journal Animal Science. 2007; 85,1990-1996. DOI: 10.2527/jas.2006-686

BERNAL L, Ávila P, Ramírez G, Lascano CE, Tiemann T, Hess H. Degradación de nutrientes y emisión de gases al fermentar ensilaje y heno de *Calliandra calothyrsus* y *Vigna unguiculata* en el sistema Rusitec. Asociación Latinoamericana de Producción Animal. 2008; 16,199-204. ISSN: 1022-1301.

BESERRA LM, Leal CM, Maia S, Fernades AL, Freitas LT. Plantas taaniníferas e o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. Ciencia Rural. 2011; 41,1967-1974. ISSN: 0103-8478.

BRAKE DW, Titgemeyer EC, Bailey EA, Anderson DE. Small intestinal digestion of raw cornstarch in cattle consuming a soybean hull-based diet is improved by duodenal casein infusion. Journal Animal Science. 2014; 92,4047-4056. DOI: 10.2527/jas/2014-7908.

CÁRDENAS PA. Efectos de los taninos encontrados en las leguminosas tropicales utilizadas en la nutrición de rumiantes. Revista PECUS Colombia 2012; (3):33-39.

CARDONA-IGLESIAS JL, Mahecha-Ledesma L, Angulo-Arizala J. Arbustivas forrajeras y ácidos grasos: estrategias para disminuir la producción de metano entérico en bovinos. Agronomía Mesoamericana. 2016;28, 273-288. ISSN: 1021-7444.

CARMONA JC, Bolívar DM, Giraldo LA. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 2005; 18,49-63. ISSN: 0120-0690

DHANOVA MS, France J, Crompton LA, Mauricio RM, Kebreab E, Mills JAN, Sanderson R, Dijkstra J, López S. Technical note: A proposed method to determine the extent of degradation of a feed in the rumen from the degradation

profile obtained with the *in vitro* gas production technique using feces as the inoculum. Journal Animal Science. 2004; 82,733-746. DOI: 10.1093/ansci/82.3.733

DUVAL A, Averous L. Characterization and physicochemical properties of condensed tannins from *Acacia catechu*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2016; 64,1751-1760. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b05671

EBERT PJ, Bailey EA, Shreck AL, Jennings JS, Cole NA. Effect of condensed tannin extract supplementation on growth performance, nitrogen balance, gas emissions, and energetic losses of beef steers. Journal Animal Science. 2017; 95,1345-1355. DOI: 10.2527/jas.2016.0341

FASS. Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching. 2010.3th ed. Champaign, IL, USA: Federation of Animal Science Societies. IBBN 975-1-831706-11-0
https://www.asas.org/ag_guide_3rded/HTML5/index.html

FRUTOS P, Hervás G, Giráldez FJ, Mantecón AR. Tannins and ruminant nutrition. Spanish Journal of Agricultural Research. 2004; 2,191-202.
<http://revistas.inia.es/index.php/sjar/article/view/73/0>

GILROYED BH, Li C, Reuter T, Bauchemin KA, Hao X, McAllister TA. Influence of distiller's grains and condensed tannins in the diet of feedlot cattle on biohydrogen production from cattle manure. International Journal of Hydrogen Energy. 2015; 40,6050-6058. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2013.07.014

GRAINGER C y BEAUCHEMIN KA. Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production? Animal Feed Science and Technology. 2011; 166,308-320. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2011.04.021

HENKE A, Dickhoefer U, Westreicher-Kristen E, Knappstein K, Molkentin J, Hasler M, Susenbeth A. Effect of dietary Quebracho tannin extract on feed intake, digestibility, excretion of urinary purine derivatives and milk production in dairy cows. Archives of Animal Nutrition. 2016; 71,37-53. DOI: 10.1080/1745039X.2016.1250541

HICKS CR. Fundamental Concepts in the Design of Experiments. Holt, Reinhardt and Wiston, New York. 1973. ISBN 003080132x.

HUANG XD, Liang JB, Tan HY, Yahya R, Ho YW. Effects of *Leucaena* condensed tannins of differing molecular weights on *in vitro* CH₄ production. Animal Feed

Science and Technology. 2011; (166-167), 373-376. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2011.04.026

HUNTINGTON GB, Harmon DL, Richards CJ. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. *Journal Animal Science*. 2006; 84 (Suppl 1):E14-E24. DOI: 10.2527/2006.8413_supplE14x

JONES GA, McAllister TA, Muir AD, Cheng KJ. Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 1994; 60,1374-1378. DOI: 0099-2240/94

KARDEL M, Taube F, Schultz H, Gierus M. Different approaches to evaluate tannin content and structure of selected plants extracts - review and new aspects. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 2013; 86,154-166. DOI: 10.5073/JABFQ.2013.086.021

KEBREAB EJ, Dijkstra A, Bannink, France J. Recent advances in modeling nutrient utilization in ruminants. *Journal Animal Science*. 2009; 87(Suppl. 1), E111-E122. DOI: 10.2527/jas.2008-1313

KRUEGER WK, Gutierrez-Bañuelos H, Carstens GE, Min BR, Pinchak WE, Gomez RR, Anderson RC, Krueger NA, Forbes TDA. Effects of dietary tannin source on performance, feed efficiency, ruminal fermentation, and carcass and non-carcass traits in steers fed a high-grain diet. *Animal Feed Science and Technology*. 2010; 159,1-9. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2010.05.003

LASCANO C, Cárdenas E. Alternatives for methane emission mitigation in livestock systems. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2010; 39,175-182. DOI: 10.1590/S1516-35982010001300020

MAKKAR HPS. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*. 2003; 49,241-256. DOI: 10.1016/S0921-4488(03)00142-1

MILLER DN, Berry ED, Wells JE, Ferrell CL, Archibeque SL, Freetly HC. Influence of genotype and diet on steer performance, manure odor, and carriage of pathogenic and other fecal bacteria. III. Odorous compound production. *Journal Animal Science*. 2006; 84,2533-2545. DOI: 10.2527/jas.2005-748

MILLER DN, Varel VH. *In vitro* study of the biochemical origin and production limits of odorous compounds in cattle feedlots. *Journal Animal Science*. 2001; 79,2949-2956. DOI: 10.2527/2001.79122949x

NASEM. The National Academies of Science, Engineering, and Medicine. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 8th ed. Washington, DC, USA: National Academy Press. 2016.

OWENS FN, Zinn RA, Kim YK. Limits to starch digestion in the ruminants small intestine. *Journal Animal Science*. 1986; 63,1634-1648. DOI: 10.2527/jas.1986.6351634x

SHABTAY A, Ravid U, Brosh A, Baybikov R, Eitam H, Laor Y. Dynamics of offensive gas-phase odorants in fresh and aged feces throughout the development of beef cattle. *Journal Animal Science*. 2009; 87,1835-1848. DOI: 10.2527/jas.2008-1357

VAREL VH, Miller DN. Plant-derived oils reduce pathogens and gaseous emissions from stored cattle waste. *American Society for Microbiology*. 2000; 3,1366-1370. DOI: 10.1128/AEM.67.3.1366-1370.2001

VÁZQUEZ AA, Álvarez E, López JA, Wall A, De la rosa LA. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia Chihuahua*. 2012; 6,84-93.

VÉLEZ-TERRANOVA M, Campos-Gaona R, Sánchez-Guerrero H. Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 2014; 17,489-499. E-ISSN: 1870-0462

CAPÍTULO 3. INFLUENCIA DEL NIVEL DE ADICIÓN DE EXTRACTO DE TANINOS EN LA PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO* DE LAS HECES DE BOVINOS

Este capítulo se envió para su revisión a la Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, Julio de 2021.

3.1. RESUMEN

Para determinar la influencia del nivel de adición de extractos de taninos en la disminución de la producción de gas *in vitro* de las heces de bovinos. Se tomaron muestras de heces ocho bovinos de $420 \pm$ (DE) 6.5 kg alimentados con una dieta de finalización. Las heces se mezclaron con una cantidad igual de agua destilada (peso/peso) y en un diseño completamente al azar, fueron asignados a cuatro niveles de adición de extracto de taninos ET: 1) Heces sin adición de ET (Testigo); 2) Heces más 4% de ET en base seca; 3) Heces más 8% de ET; y 4) Heces más 12% de ET. Se colocaron en frascos de plástico y por cuadruplicado se incubaron durante 24 h, se midió la producción gas por desplazamiento de agua. Los resultados se analizaron por ADEVA para un diseño completamente aleatorizado, por polinomios y regresión lineal. La producción de gas *in vitro*, disminuyó de manera lineal ($P < 0.01$) a medida que se incrementó la cantidad de ET adicionada. La adición de 4% redujo en 16% de la producción de gas ($P < 0.01$); y con 8% disminuyó 52 ($P < 0.01$). La cantidad de gas producido por gramo de materia seca de las heces disminuyó de manera lineal en proporción inversa a la cantidad de taninos adicionados ($P < 0.01$). Los resultados del presente experimento sugieren que la adición de taninos condensados a las heces de bovinos en engorda pueden contribuir a disminuir la emisión de gases durante su descomposición.

Palabras clave: taninos, producción de gases, bovinos

ABSTRACT

To determinate, the influence of tannins extract addition level on in vitro gas production of feces of bovines. Fecal samples were taken from eight bovines $420 \pm$ (DE) 6.5 kg fed finishing diet. Feces were mixed with distilled water (w/w) and in a completely randomized experimental design were assigned to four tannins extract (TE) addition levels: 1) Feces without TE addition (Control); 2) Feces plus 4% of TE; 3) Feces plus 8% of TE; and 4) Feces plus 12% of TE. Were placed in plastic flasks and incubated during 24 h, gas production was measured by displacement of water. Results were analyzed by ANOVA for a completely randomized experimental design, polynomials and linear regression. *In vitro* gas production decreased linearly as TE addition was increased ($P < 0.01$). Addition of 4% TE reduced 16% gas production ($P < 0.1$); and 8% diminished 52% gas production ($P < 0.01$). Amount of gas produced by gram of fecal dry matter diminished linearly in inverse proportion to quantity of added tannin ($P < 0.01$). Results of actual experiment suggest that condensed tannins addition feces of feedlot bovines could contribute to diminishing the gas emission during their decomposition.

Key words: tannins, gas production, bovines

3.2. INTRODUCCIÓN

El aumento en la cantidad de animales confinados en las empresas dedicadas a la engorda intensiva de bovinos, así como el manejo de las grandes cantidades de excretas producidas en ellas, se relacionan cada vez más con su impacto al medio ambiente ^(1, 2, 3). Por lo que la disminución en la emisión de sólidos y gases se vuelven factores que ejercen presión en la ganadería intensiva ^(4, 5). Los gases producidos por las heces de los bovinos contribuyen a la diseminación de olores desagradables ^(6, 7), así como a la emisión de gases con efecto invernadero como el metano y compuestos nitrogenados como el amoníaco que posteriormente en la atmosfera se transforman en óxido nitroso ⁽⁸⁾. Algunos autores han sugerido que los taninos pueden contribuir a la reducción en la emisión de gases taninos ^(3, 9). Los taninos son compuestos polifenólicos, producto del metabolismo secundario de las plantas y se encuentran ampliamente distribuidos en gran diversidad de ellas ^(10, 11). Estas sustancias son producidas como defensa de las plantas contra el ataque animales herbívoros, insectos e incluso microorganismos ^(12, 13). Los taninos tienen la capacidad de unirse a las proteínas y formar complejos estables en valores de pH superiores a 3.5 ^(14, 15), por lo que al ligar la proteína pueden evitar su degradación hasta amoníaco y también al unirse a las proteínas de las membranas celulares de las bacterias trastornan su funcionamiento con lo que limitan su posibilidad de fermentar a la materia orgánica con la concomitante producción de gas ^(9, 16). En la actualidad existen disponibles en el mercado extractos de taninos obtenidos de plantas ricas en ellos, por lo que se planteó la hipótesis que la adición de extractos de taninos a las heces puede contribuir a la disminución de la producción de gas a partir de ellas.

El presente trabajo se llevó a cabo con el objetivo de determinar la influencia del nivel de adición de los extractos de taninos en la disminución de la producción de gas *in vitro* de las heces de bovinos.

3.3. MATERIAL Y MÉTODOS

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación en Nutrición y Producción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en Culiacán, Sinaloa, con la siguiente localización geográfica: 24°90' de latitud Norte, 107°49' de longitud Oeste, 40 msnm, temperatura media anual de 24.8°C; mínima 16.3°C y máxima 44.5°C, precipitación pluvial media anual de 665.6 mm, predominando el clima tropical seco. Todos los bovinos que se utilizaron en los experimentos fueron tratados de acuerdo con las recomendaciones de la Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching ⁽¹⁷⁾.

Obtención de las heces. Para garantizar que las heces utilizadas en la prueba correspondieran a las que usualmente son producidas en la industria de la engorda intensiva de bovinos, en una engorda comercial con capacidad instalada para 5 000 bovinos en engorda intensiva, de entre los 70 lotes de bovinos en engorda disponibles en el corral de engorda, se ubicaron aquellos que cumplieran con más de 60 días de estar consumiendo la dieta de finalización. Se seleccionó aleatoriamente un lote integrado por 72 animales y dentro de él, en un muestreo irrestricto aleatorio se eligieron ocho bovinos machos enteros, Brahmán con encaste de pardo suizo con peso promedio de $420 \pm$ (DE) 6.5 kg alojados en un mismo corral con piso de tierra y acceso permanente a agua limpia, los cuales estuvieron alimentados con una dieta de finalización (12.95 % PC; ENm 1.98 Mcal/kg MS; ENg1.32 Mcal/kg MS) formulada con base a grano de maíz y rastrojo de maíz (Cuadro 1).

Los bovinos fueron removidos del corral hacia la manga de manejo y una vez asegurados en la prensa ganadera, de cada uno de ellos se obtuvieron muestras de heces (aproximadamente 200 g) tomadas directamente del recto utilizando guantes de látex y colocadas inmediatamente en bolsas de plástico, inmediatamente, las bolsas fueron cerradas, identificadas y transportadas al Laboratorio.

Preparación de las muestras. Una vez en el laboratorio, las ocho muestras de heces se mezclaron en una licuadora (5 min) para constituir una muestra compuesta. De la muestra compuesta de heces se tomaron tres alícuotas de aproximadamente 20 gramos y se determinó el contenido de materia seca (MS) en estufa de aire forzado a 105 °C durante 24 h ⁽¹⁸⁾.

La muestra compuesta ya constituida, se dividió en cuatro porciones de 300 g, a cada porción se les adicionaron 300 mL de agua destilada y luego fueron homogenizadas mezclando los en una licuadora durante 3 minutos. Y a continuación, se les midió el valor de pH ⁽¹⁹⁾, utilizando un potenciómetro portátil (HI99163 membrane pH meter; Hanna Instruments, USA).

Diseño experimental y tratamientos. Cada una de las cuatro sub-muestras con base a un diseño completamente al azar, fueron asignadas en forma aleatoria a uno de cuatro tratamientos: 1) Incubación sin la inclusión de extracto de taninos (Testigo); 2) Adición de 4% en base seca de extracto de taninos condensados; 3) Adición de 8% de extracto de taninos condensados; y 4) Adición de 12 % de extracto de taninos condensados.

El extracto de taninos condensados fue proporcionado en forma del producto Bypro® (INDUNOR; Buenos Aires, Argentina), que contiene 70 % de extracto de taninos condensados obtenidos del árbol de Quebracho (*Schinopsis balansae*).

Incubación. El procedimiento de incubación se realizó de la siguiente manera: a cada una de las diluciones de 300 g de heces de la muestra compuesta con 300 g de agua destilada, de acuerdo con la materia seca determinada a las muestras de heces (24%), se calculó en 72 g la cantidad de heces en base seca contenida en la mezcla compuesta homogenizada. Con base en el cálculo anterior, se le adicionó el extracto de taninos que le fue asignado en base a un diseño completamente al azar ⁽²⁰⁾, en las siguientes cantidades: Tratamiento 1: 0.0 g de extracto de taninos (ET); Tratamiento 2; 2.88 g ET; Tratamiento 3: 5.76 g ET; y tratamiento 4: 8.64 g ET.

De cada una de las diluciones, en cuatro frascos de plástico con tapón de rosca con capacidad de 400 mL, se depositaron 100 g de la dilución, formando 4 repeticiones por tratamiento. Cada uno de los frascos identificados con su tratamiento respectivo, así como el número de repetición correspondiente, fueron pesados en balanza analítica y luego se cerraron con un tapón de rosca, acondicionado con la conexión a un tubo de plástico antiadherente y con ausencia de poros (Tygon®; Saint-Gobain; Francia). Los frascos se agitaron manualmente para homogenizar nuevamente el contenido y se colocaron en un baño maría a 37°C; el extremo opuesto del tubo de plástico se colocó en el interior de una probeta de vidrio graduada de 250 mL, llenada con agua destilada y colocada en posición invertida dentro de un baño de agua ^(21, 22). Cada una de las probetas se identificó con los datos del tratamiento y número de repetición respectivo.

Una vez completado el lapso de 24 h de incubación, se midió la producción de gas como el equivalente a la cantidad de agua desplazada al interior de cada una de las probetas expresada en mL.

Los frascos fueron retirados del baño maría, se les quitó el tapón y fueron pesados nuevamente con balanza analítica. Se tomaron muestras de su contenido residual de la fermentación y se les determinó el contenido de amoníaco adicionando a la muestra 1 g de óxido de magnesio y procediendo a la destilación del método de Kjeldhal ⁽¹⁸⁾, contenido de materia orgánica (100% - cenizas), calcinando la muestra a 550 °C durante 3 h ⁽¹⁸⁾.

Análisis estadístico. A los resultados se les aplicó un análisis de varianza para un diseño completamente al azar ⁽²⁰⁾. Se fijó un nivel máximo de $P \leq 0.05$ para aceptar diferencia estadística. El comportamiento lineal o cuadrático se exploró con el uso de polinomios ortogonales. La correlación lineal entre la adición de ET y la disminución en la producción de gas fue calculada por regresión lineal simple. Adicionalmente se realizó una comparación con el contraste Testigo (0% ET vs. Taninos (4 + 8 + 12% ET). Todos los cálculos estadísticos se desarrollaron con la versión 9 del paquete computacional Statistix® ⁽²³⁾. El modelo matemático ⁽²⁰⁾ que

se utilizó fue $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$; donde Y_{ij} = Variable de respuesta, μ = Media general, τ_i = Efecto del j-ésimo tratamiento, y ε_{ij} = Error aleatorio (experimental).

3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El valor de pH determinado en las heces fue en promedio 7.1; este valor se encuentra dentro del rango de valores de pH de 5.71 a 5.93 reportado como esperable en las heces de bovinos alimentados con dietas basadas en grano de maíz procesado en seco de 5.71 a 5.93 ⁽²⁴⁾.

El resultado del efecto del nivel de adición de extractos de taninos condensados en la disminución de la producción de gas *in vitro* de las heces de bovinos en finalización se presenta en el Cuadro 2. La producción de gas *in vitro* de las heces de bovinos, disminuyó de manera lineal ($P < 0.01$) a medida que se incrementó la cantidad de ET adicionada. La adición del nivel más bajo de extracto de taninos utilizado en este experimento que fue del 4% indujo una disminución en 16% de la producción de gas *in vitro* ($P < 0.01$); y con la adición del 8% fue suficiente para disminuir en más de la mitad (52%) la producción de gas *in vitro* de las heces de los bovinos en engorda ($P < 0.01$). La reducción en la cantidad de bacterias con capacidad para degradar los componentes de la materia orgánica se refleja como una disminución en la producción de gas ⁽²⁵⁾. Debido a que el pH de las heces utilizadas en el presente experimento fue 5.71 y que los taninos condensados pueden formar complejos estables con las proteínas cuando los valores de pH oscilan entre 3.5 y 7.0 ^(14, 15); la reducción en la cantidad de gas emitido observada en el experimento actual, se puede atribuir a la capacidad de los taninos para unirse a las proteínas de la membrana celular de las bacterias, cambiar su estructura y función, e inhibir su capacidad de unirse a las partículas de alimento y la fermentación de sus nutrientes ^(16, 26, 27). Estos trabajos se han desarrollado con bacterias obtenidas del rumen, sin embargo, es posible una comparación al utilizar inóculos a partir de las heces de rumiantes para realizar pruebas de producción de gas *in vitro* ⁽²⁵⁾. Este resultado concuerda con lo observado en rumen por Carmona *et al.* ⁽²⁸⁾, Bernal *et al.* ⁽²⁹⁾ y Cárdenas ⁽¹⁶⁾, quienes sugieren que la adición de taninos disminuye la producción de gas. Gilroyed *et al.* ⁽³⁰⁾ encontraron que con la

adición de 2.5 % de TC en la dieta de bovinos en finalización se disminuyó la producción de hidrógeno en las heces.

Tal vez una manera más precisa de medir el impacto de los taninos en la disminución de gas, es expresarlos como la cantidad de gas producido como proporción de la materia seca de las heces. En el experimento actual, la cantidad de gas producido por gramo de materia seca disminuyó de manera lineal en proporción inversa a la cantidad de taninos adicionados ($P < 0.01$).

Este desempeño de los taninos fue descrito por la ecuación de regresión lineal Producción de gas (mL/g MS) = 12.938 - 0.7729 (Extracto de taninos, % de MS); ($P < 0.001$; $r^2 = 0.97$). Esto implica, que la adición 1% de extracto de taninos (en base seca), puede contribuir con una disminución de 6% en el gas producido como consecuencia de la descomposición de las heces de los bovinos en engorda intensiva. La pérdida de peso de los frascos al final de las 24 de incubación se interpreta como una expresión de la cantidad de material de las heces que fue transformado en sustancias volátiles. Esta variable disminuyó linealmente en proporción al aumento en la proporción de ET adicionado ($P < 0.01$). Si bien no lo es de manera exacta, si constituye una aproximación a la cantidad de materia seca fermentada tomando en cuenta que cuando la materia orgánica es fermentada, aproximadamente el 96% de su masa es transformada a compuestos volátiles y el resto se transforma en agua ⁽³¹⁾. De acuerdo con esto se puede considerar que la cantidad de gas producida por g de MS fermentada fue muy similar al menos en los primeros tres tratamientos y de manera general fue en promedio de 344 mL/g de MS fermentada, por lo que el efecto claro del ET fue en la disminución de la cantidad de MS que se fermentó.

Si bien se ha asociado a los bovinos como grandes emisores de metano, la realidad es que la mayor contribución de los rumiantes proviene de la contribución derivada de la fermentación entérica y la derivada de la gestión de las heces solamente es de importancia cuando esto se hace en sistemas anaeróbicos y húmedos como las lagunas de oxidación ⁽⁸⁾ ; por lo cuando las excretas de los bovinos se manejan en forma sólida en forma de pilas o esparcidos como

fertilizantes sobre el suelo de cultivo, estas se descomponen bajo condiciones aerobias y entonces su contribución a la producción de metano es negligible ⁽⁸⁾.

La adición de ET en cualquiera de los niveles utilizados en el actual experimento disminuyó en 15% la concentración de amoníaco ($P = 0.05$), al mismo tiempo se observa que una vez que precipitó a la baja la concentración de amoníaco con la adición del nivel más bajo de ET (4%), la concentración con niveles subsiguientes de adición formó una meseta. Este comportamiento fue descrito una disminución lineal en la medida que aumentó la cantidad de ET adicionado ($P = 0.03$), sin embargo, no existió diferencia en la actividad dentro de los niveles de ET cuando estuvieron presentes ($P > 0.10$). Este comportamiento es parcialmente descrito por la tendencia ($P = 0.06$) a un comportamiento cuadrático de esta variable. Este resultado sugiere que la adición de ET en concentraciones superiores al 4% no es esperable que arrojen beneficio adicional.

El 15% de reducción en la producción de amoníaco, es un indicador importante de la disminución del impacto de la fermentación de las heces de bovinos en su contribución los gases con efecto invernadero, debido a que este compuesto volátil alcanza la atmosfera, y bajo adecuadas condiciones de temperatura y humedad eventualmente puede ser transformado en N_2O en una proporción de 0.016 g por cada g de NH_3 volatilizado ⁽⁸⁾. El N_2O es una sustancia con un fuerte impacto en el calentamiento de la atmosfera que se calcula en el equivalente a 84 veces mayor que el CO_2 , por lo que cualquier disminución en su generación será de beneficio para el medioambiente.

3.5. CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

Los resultados del presente experimento sugieren que la adición de taninos condensados a las heces de bovinos en engorda pueden contribuir a disminuir la emisión de gases durante su descomposición. Lo que implica la posibilidad del uso de este tipo de sustancias como una herramienta tecnológica para disminuir el impacto ambiental por las heces producidas en las unidades de producción

intensiva de carne en las que se acumulan gran cantidad de animales y en consecuencia también de las excretas producidas por ellos.

3.6. AGRADECIMIENTOS Y CONFLICTO DE INTERESES.

Los autores agradecen a Técnica Mineral Pecuaria, S.A. de C.V. por el donativo de los extractos de taninos. Al MVZ Billy Josué Cervantes Pacheco por su apoyo para la obtención adecuada de las muestras de heces de los bovinos.

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses con los productos ni con los instrumentos utilizados en la presente investigación. Eva Xitlalic Murillo Ayala, tesista de Doctorado del Programa de Doctorado en Ciencias Pecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, participó activamente en la concepción de la idea, la obtención de datos y análisis de laboratorio, así como la redacción final. Rubén Barajas Cruz, estuvo a cargo de la planeación general y conducción de la prueba, Dela análisis estadístico y redacción final del artículo. Javier Alonso Romo Rubio participó en la planeación del trabajo y revisión del manuscrito. Las Idalia Enríquez Verdugo y Soila Maribel Gaxiola Camacho participaron en los análisis de laboratorio y revisión del documento escrito y Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola participo en la obtención de datos, preparación de las muestras y análisis de laboratorio.

3.7. LITERATURA CITADA

1. Adeola, O. 1999. Nutrient management procedures to enhance environmental conditions: An introduction. *J. Anim. Sci.* 77:427-429.
2. Kebreab E.J, A. Dijkstra, E. Bannink, J. France. 2009. Recent advances in modeling nutrient utilization in ruminants. *Journal Animal Science.* 87 (Suppl. 1): E111-E122.
3. Cardona-Iglesias J.L., L. Mahecha-Ledesma, J. Angulo-Arizala. A2016. Arbustivas forrajeras y ácidos grasos: estrategias para disminuir la

- producción de metano entérico en bovinos. *Agronomía Mesoamericana*. 28: 273-288.
4. Archibeque, S.L., D.N. Miller, H.C. Freetly, and C.L. Ferrell. 2006. Feeding high-moisture corn instead of dry-rolled corn reduces odorous compound production in manure of finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 84:1767-1777.
 5. Grainger C. and K.A. Beauchemin. 2011. Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production? *Animal Feed Science and Technology*. 166:308-320.
 6. Varel V.H., D.N. Miller. 2000. Plant-derived oils reduce pathogens and gaseous emissions from stored cattle waste. *American Society for Microbiology*. 3:1366-1370.
 7. Shabtay A., U. Ravid, A. Brosh, R. Baybikov, H. Eitam, Y. Laor. 2009. Dynamics of offensive gas-phase odorants in fresh and aged feces throughout the development of beef cattle. *Journal Animal Science*. 87:1835-1848.
 8. IPCC, 2006. Directrices del IPCC de 2006 para los inventarios nacionales de gases de efecto invernadero Volumen 4: Agricultura, silvicultura y otros usos de la tierra. <https://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/spanish/vol4.html>
 9. Barros-Rodríguez M., J. Oña-Rodríguez, R. Mera-Andrade, J. Artieda-Rojas, S. Curay-Quispe, D. Avilés-Esquivel. 2017. Degradación ruminal de dietas a base de biomasa pos-cosecha de *Amaranthus cruentus*: efecto sobre los protozoos del rumen y producción de gas *in vitro*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 28:812-821.
 10. Frutos P., G. Hervás, F.J. Giráldez, A.R, Mantecón. 2004. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 2:191-202.
 11. Vélez-Terranova M., R. Campos-Gaona, H. Sánchez-Guerrero. 2014. Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 17:489-499.
 12. Kardel M., F. Taube, H. Schultz, M. Gierus. 2013. Different approaches to evaluate tannin content and structure of selected plants extracts - review and new aspects. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 86:154-166.

13. Duval A., L. Averous. 2016. Characterization and physicochemical properties of condensed tannins from *Acacia catechu*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 64:1751-1760.
14. Makkar H.P.S. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*. 49:241-256.
15. Beserra L.M., C.M. Leal, S. Maia, A.L. Fernades, L.T. Freitas. 2011. Plantas taaniníferas e o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. *Ciencia Rural*. 2011; 41,1967-1974.
16. Cárdenas, P. A. 2012. Efectos de los taninos encontrados en las leguminosas tropicales utilizadas en la nutrición de rumiantes. *Revista PECUS Colombia*. 3:33-39.
17. FASS, 2010. *Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching*. Federation of Animal Science Societies. Champaign, IL.
18. AOAC.1995. *Official Methods of Analysis (16 th Ed)*. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
19. Haaland, G. L., H. F. Tyrrell, P. W. Moe, and W. E. Wheeler. 1982. Effect of crude protein level and limestone buffer in diets fed at two levels of intake on rumen pH, ammonia-nitrogen, buffering capacity and volatile fatty acid concentration of cattle. *J. Anim. Sci*. 55:943-950.
20. Hicks, C.R.1973. *Fundamental Concepts in the Design of Experiments*. Holt, Reinhart and Wiston, New York.
21. Miller, D. N. and V. H. Varel. 2001. In vitro study of the biochemical origin and production limits of odorous compounds in cattle feedlots. *J. Anim. Sci*. 79:2949-2956.
22. Miller, D. N., E. D. Berry, J. E. Wells, C. L. Ferrell, S. L. Archibeque, and H. C. Freetly. 2006. Influence of genotype and diet on steer performance, manure odor, and carriage of pathogenic and other fecal bacteria. III. Odorous compound production. *J. Anim. Sci*. 84:2533-2545.
23. Statistix. 2007. *Statistix User's Manual, Release 9.0*. Analytical Software, Tallahassee, FL.

24. Barajas R. and R.A Zinn. 1998. The feeding value of dry-rolled and steam-flaked corn in finishing diets for feedlot cattle: influence of protein supplementation.. J. Anim. Sci. 76:1744–1752.
25. Dhanoa, M.S., J. France, L.A. Crompton, R.M. Mauricio, E. Kebreab, J.A.N. Mills, R. Sanderson, J. Dijkstra, and S. López. 2004. Thechnical note: A proposed method to determine the extent of degradation of a feed in the rumen from the degradation profile obtained with the in vitro gas production technique using feces as the inoculum. J. Anim. Sci. 82:733-746.
26. Bae, H.D., T.A. McAllister, J. Yanke, K.J. Cheng, and A.D. Muir. 1993. Effects of condensed tannins on endoglucanase activity and filter paper digestion by *Fibrobacter succinogenes* S85. Applied and Environmental Microbiolgy. 59:2132-2138.
27. Jones, G.A., T.A. McAllister, A.D. Muir, and K.J. Cheng. 1994. Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. Applied and Environmental Microbiolgy. 60:1374-1378.
28. Carmona, J. C., D.M. Bolívar y L .A. Giraldo. 2005. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. Rev. Col. Cienc. Pec. 18:49-63.
29. Bernal, L., R.A. Suárez. 2011. La producción de forraje en el contexto del cambio climático. Rev. Cienc. Anim. 4:7-14. Cárdenas, P. A. 2012. Efectos de los taninos encontrados en las leguminosas tropicales utilizadas en la nutrición de rumiantes. Revista PECUS Colombia. 3:33-39.
30. Gilroyed, B. H., C. Li, T. Reuter, K. A. Bauchemin, X. Hao, and T. A. McAllister. 2013. Influence of distiller’s grains and condensed tannins in the diet of feedlot cattle on biohydrogen production from cattle manure. International Journal of Hydrogen Energy, 40:6050-6058.
31. Wolin, M.J., 1960. A theoretical rumen fermentation balance. J. Dairy Sci. 40, 1452–1456

32. NASEM. 2016. The National Academies of Science, Engineering, and Medicine. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 8th ed. National Academy Press. Washington, DC, USA

Cuadro 1. Composición de la dieta consumida por los bovinos utilizados en la prueba

Ingredientes	Dieta, %
	Finalización
Paja de maíz	12.00
Maíz quebrado	59.50
DDGS	12.50
Melaza de caña	8.00
Aceite vegetal	2.5
Premezcla de vitaminas y minerales	4.00
Zeolita	1.5
Total	100 %
Análisis calculado (en base seca) †	
Proteína cruda, %	12.95
Energía neta de mantenimiento Mcal/kg	1.98
Energía neta de ganancia, Mcal/kg	1.32

† Calculados con base a valores publicados

Cuadro 2. Influencia de la concentración de extracto de taninos adicionados en la producción de gas *in vitro* y contenido de amoníaco de las heces.

Variable	Extracto de taninos, % de la MS				EEM	Valor de <i>P</i>	Polinomios		Contraste ¹
	0	4	8	12			L	C	
Repeticiones	4	4	4	4					
Contenido por frasco									
Extracto de taninos, g	0.0	0.48	0.96	1.44					
Heces en base seca, g	12	12	12	12					
Producción de gas									
mL/24 h	152.5 ^a	128.5 ^b	72.5 ^c	47.0 ^d	1.267	< 0.01	< 0.01	0.57	< 0.01
mL/g de MS	12.7 ^a	10.6 ^b	6.0 ^c	3.9 ^d	0.105	< 0.01	< 0.01	0.68	< 0.01
Pérdida de peso del frasco., g	0.40 ^a	0.33 ^{ab}	0.22 ^{bc}	0.21 ^c	0.021	< 0.01	< 0.01	0.14	< 0.01
Materia orgánica, %	22.95	18.50	18.33	24.71	3.777	0.56	0.77	0.18	0.59
Amoníaco, %	0.88 ^a	0.75 ^b	0.75 ^b	0.75 ^b	0.032	0.05	0.03	0.06	< 0.01

Contraste¹ = Testigo (0% ET) vs. Taninos (4, 8 y12% ET)

CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES GENERALES

Los extracto de taninos condensados e hidrolizables contribuyen a disminuir la producción de gas en las heces de bovinos en engorda cuando son añadidos directamente sobre las heces; sin embargo sin embargo, cuando son incluidos como parte de la dieta ofrecida a los bovinos, carecen de impacto en la producción de gas de a partir de las heces de bovinos en engorda.

