

**SEP**

SECRETARÍA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO  
Instituto Tecnológico de Conkal



# **INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL**

## **DEGRADACIÓN *in vitro* DE SEMILLAS Y FORRAJE**

### **PELETIZADO DE *Brosimum alicastrum***

#### **TESIS**

**Que presenta:**

**KAREN BRIGITTE DÍAZ MAGAÑA**

**Como requisito parcial para obtener el título de:**

**INGENIERA EN AGRONOMÍA**

**Conkal, Yucatán, México,**

**2017**

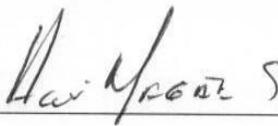
La presente Tesis fue realizada por Karen Brigitte Díaz Magaña de la carrera de Ingeniería en Agronomía con especialidad en Producción Animal Sustentable y con número de control 12800328, con el título; Degradación *in vitro* de semillas y forraje peletizado de *Brosimum alicastrum*, la cual fue dirigida y revisada por el jurado que fue asignado en su oportunidad, y cuyos integrantes firman su consentimiento para que este trabajo sea presentado como requisito parcial para la titulación de acuerdo al proceso de Titulación Integral y al Manual de Lineamientos Académicos-Administrativos del Tecnológico Nacional de México.

DIRECTOR



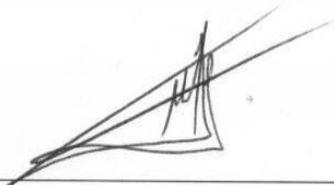
DR. FRANCISCO ALEONSO LARQUÉ SAAVEDRA

ASESOR



M.C. HÉCTOR FELIPE MAGAÑA SEVILLA

ASESOR



M.V.Z. LUIS FERNANDO DE JESÚS NAVARRETE SIERRA

## **DEDICATORIAS**

Este trabajo está dedicado a mis padres, Alfredo Diaz y Mirella Magaña porque son el inicio y fin de mis pensamientos.

Dedicado también, para todo estudiante con aspiraciones personales altas que solo las cree posibles en sueños. El sueño es el inicio de una idea que se concreta con acciones y el que rechaza sus sueños pierde la esencia de su ser.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por poner en mi camino a personas extraordinarias, darme una familia irremplazable y guiar mis pasos en esta travesía que es la vida.

A mis padres, en especial a mi madre, por ser mis guías y darme las armas para luchar en un mundo en constante conflicto con el esfuerzo humano, por su amor y paciencia, así como su apoyo incondicional firme y por apostar por mí ciegamente.

A mis hermanos y hermanas por su cariño, apoyo y consideración, además de siempre creer en mí, en especial a mi hermano menor a quien le dejo una semilla para que cultive su propio árbol de vida. También a mis sobrinos por su amor "desinteresado" y su admiración hacia el medio en el que me desarrollo.

Al Dr. Héctor Magaña por ser un mentor admirable y alentarme constantemente a ser una profesional con alta perspectiva, además de brindarme su confianza y amistad, lo cual valoro sobremanera.

Al Dr. Alfonso Larqué por abrirme las puertas del CICY, por brindarme su apoyo y amistad lo cual valoro, así como también a sus colaboradores la Lic. Silvia Vergara y el Ing. Israel Sheseña quienes me ayudaron pacientemente.

A mis amigos, compañeros de aventuras, que me extendieron la mano e hicieron ameno el largo camino que juntos recorrimos en la carrera, singularmente aquellos que conocí en la especialidad. A las personas que dentro del ITC, apostaron por mí y me ayudaron desinteresadamente en trámites, eventos extracurriculares o me instruyeron como parte de mi formación académica.

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la degradabilidad *in vitro* y cinética de producción de gas de forraje y semilla peletizado de *Brosimum alicastrum* las cuales se compararon contra sus respectivas versiones de control a través de cuatro tratamientos: hojas molidas (CHBa), hojas peletizadas (PHBa), semilla molida (CSBa) y semilla peletizada (PSBa). Se completaron tres incubaciones por tratamiento con inoculo ruminal de bovinos. El experimento se realizó en el Parque Científico Tecnológico de Yucatán. La producción de gas se determinó de 0 hasta las 96 h de fermentación, los resultados obtenidos se ajustaron al modelo propuesto por Groot *et al.* (1996), con coeficientes de determinación ( $R^2$ ) superiores a los 0.90. Se encontró que no hubo diferencias significativas ( $P>0.05$ ) para la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) de la semilla peletizada ( $88.4 \pm 8.4$  %) y sin peletizar ( $83.6 \pm 2.5$  %), los valores para hoja peletizada y no peletizada fueron  $60.9 \pm 2.4$  y  $64.1 \pm 6.8$  % respectivamente. El tratamiento con semilla de *Brosimum alicastrum* presentó los valores más elevados de producción de gas ( $P<0.05$ ) con  $305.6 \pm 51.74$  ml ( $R^2 .9626$ ), sin embargo fue menor para semilla peletizada con una producción total de  $257 \pm 30.98$  ml ( $R^2 0.9839$ ) que también mostró una producción similar a la de hoja peletizada y sin peletizar que fue de  $259.8 \pm 80.72$  y  $259.2 \pm 81.81$  respectivamente. El proceso de peletizado no altera la digestibilidad de la materia seca de hojas y semillas de *Brosimum alicastrum*, empero, hay una marcada diferencia coherente entre la digestibilidad de hojas y semillas. El peletizado consistentemente disminuye la producción de gas, lo que se traduce en una reducción de la pérdida de energía por metano para el animal.

Palabras clave: Peletizado, *Brosimum alicastrum*, digestibilidad *in vitro*

## ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the *in vitro* degradability and kinetic of gas production of *Brosimum alicastrum* fodder and seeds, with a pelleting process, compared against their respective control versions, through four treatments: Ground leaves (CHBa), pelletized ground leaves (PHBa), ground Seeds (CSBa) and pelletized ground seeds (PSBa). *In vitro* gas production was performed by triplicate, using bovine ruminal inoculum. The experiment was carried out at the Centro de Investigación Científica de Yucatán, at the Parque Científico y Tecnológico de Yucatán. The gas production technique was performed from 0 to 96 h of fermentation, the results were adjusted to the model proposed by Groot, with coefficients of determination ( $R^2$ ) higher than 0.90. There were no significant differences ( $P > 0.05$ ) for *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) of the pelleted ( $88.4 \pm 8.4\%$ ) and non-pelleted ( $83.6 \pm 2.5\%$ ) seeds, and the values for leaves was  $60.9 \pm 2.4$  (pelleted) and  $64.1 \pm 6.8 \%$  (non-pelleted). The treatment with *Brosimum alicastrum* seed had the highest values of gas production ( $P < 0.05$ ) with  $305.6 \pm 51.74$  ml ( $R^2 .9626$ ). However, it was lower for pelleted seed With a total production of  $257 \pm 30.98$  ml ( $R^2 0.9839$ ) which also showed a similar production to pelletized and non-pelletized ground leaf, which was  $259.8 \pm 80.72$  y  $259.2 \pm 81.81$  respectively. The pelleting process does not alter the dry matter digestibility of leaves and seeds of *Brosimum alicastrum*, however, there is a marked coherent difference between leaf and seed digestibility. Consistently pelleting decreases gas production, which results in a reduction in methane energy loss for the animal.

Key words: Pelleting, *Brosimum alicastrum*, *in vitro* digestibility.

## ÍNDICE

DEDICATORIAS	2
AGRADECIMIENTOS	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
ÍNDICE DE TABLAS	9
ÍNDICE DE FIGURAS	10
1 INTRODUCCIÓN	11
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo general	15
2.2 Objetivos específicos	15
2.3 Hipótesis	15
3 FUNDAMENTO TEÓRICO	16
3.1 <i>Brosimum alicastrum</i>	16
3.1.1 Frutos y semillas	17
3.1.2 Follaje	18
3.1.3 Ramón para la alimentación animal en comparación con los pastos	19
3.2 Metabolismo digestivo de rumiantes	21
3.2.1 Factores que modifican la eficiencia microbiana	22
3.2.2 Características del medio ambiente ruminal	22
3.2.3 Degradación del almidón y la fibra en el rumen	23
3.2.4 Origen del gas	24
3.3 Peletización de alimento animal	25
3.3.1 Parámetros de uso de la peletizadora	27
3.3.2 Efecto del peletizado en el rendimiento animal	27

3.4 Procedimiento <i>in vitro</i> para evaluar alimentos en rumiantes	28
4 DESARROLLO DEL PROYECTO	30
4.1 Muestras	30
4.1.1 Colecta de <i>Brosimum alicastrum</i>	30
4.1.2 Procesamiento de <i>Brosimum alicastrum</i>	30
4.1.3 Valor nutricional de <i>Brosimum alicastrum</i>	31
4.1.4 Peletizado de <i>Brosimum alicastrum</i>	31
4.2 Digestibilidad <i>in vitro</i>	32
4.2.1 Inóculo ruminal	33
4.2.2 Medio de cultivo	33
4.2.3 Metodología para la digestión de las muestras	34
4.2.4 Metodología para determinar la producción de gas	36
4.3 Diseño experimental	38
5 RESULTADOS Y DISCUSION	39
6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	47
7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Ciclo fenológico y reproductivo de <i>Brosimum alicastrum</i> en el estado de Yucatán</i>	16
Tabla 2. <i>Composición proximal en porcentajes del extracto de almidón de <i>B. alicastrum</i> y caracterización fisicoquímica comparado con maíz.</i>	17
Tabla 3. <i>Componentes nutricionales para semilla de <i>Brosimum alicastrum</i></i>	19
Tabla 4. <i>Componentes nutricionales para forraje de <i>Brosimum alicastrum</i></i>	20
Tabla 5. <i>Porcentajes de composición nutricional para pasturas y digestibilidad de la materia seca</i>	21
Tabla 6. <i>Porcentajes de la composición química en materia seca de los diferentes componentes de la pared celular de pasturas</i>	25
Tabla 7. <i>Composición del gas del rumen y de la atmosfera (%)</i>	26
Tabla 8. <i>Elementos contenidos en el medio de cultivo para la digestión in vitro</i>	35
Tabla 9. <i>Composición química de <i>Brosimum alicastrum</i></i>	39
Tabla 10. <i>Digestibilidad in vitro de las hojas y semillas de Ramón, con y sin peletizado</i>	41
Tabla 11. <i>Comparaciones múltiples de la digestibilidad in vitro de la materia seca</i>	42
Tabla 12. <i>Perfiles de producción de gas en ml para <i>Brosimum alicastrum</i></i>	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Maquina para peletizar.</i>	31
Figura 2. <i>Pellets de hoja de Brosimum alicastrum.</i>	32
Figura 3. <i>Pellets de semilla de Brosimum alicastrum.</i>	33
Figura 4. <i>Preparación del medio de cultivo.</i>	34
Figura 5. <i>Frascos con muestra, medio de cultivo e inóculo ruminal.</i>	35
Figura 6. <i>Incubación de tratamientos a 39°C en baño maría.</i>	36
Figura 7. <i>Residuo de tratamientos previamente filtrados después de 96 h de incubación.</i>	36
Figura 8. <i>Válvula de tres vías conectada a jeringa, aguja y medidor de presión para las lecturas de la producción de gas.</i>	37
Figura 9. <i>Cinética de producción de gas de los tratamientos para Brosimum alicastrum</i>	46

## 1 INTRODUCCIÓN

La presente investigación forma parte del modelo propuesto el 10 de enero del 2011, denominado "El sector forestal en apoyo a la cruzada contra el hambre", donde se propone al árbol de Ramón (*Brosimum alicastrum*) como protagonista de una gran variedad de servicios ambientales (Larqué-Saavedra, 2014). Esta iniciativa ha sido respaldada por el Foro Consultivo Científico y Tecnológico, la Academia Mexicana de Ciencias, el Gobierno de Yucatán y el Centro de Investigación Científica de Yucatán (Larqué-Saavedra, 2017). El árbol de Ramón pertenece a la familia de las Moraceae, ampliamente distribuido en las regiones tropicales y húmedas de nuestro país, por lo que es una especie tropical dominante usada por los mayas (Larqué-Saavedra, 2014).

Yucatán es un estado ubicado al sur del trópico de cáncer geográficamente, esta particularidad aunada a su escasa altitud determinan el clima característico que presenta, del cual el 85.5 % es cálido subhúmedo y el restante 14.5 % presenta clima seco y semiseco, la máxima y mínima va de 36°C a los 16°C en promedio respectivamente, así como una precipitación media anual de 1100 mm (INEGI, 2017); las elevadas temperaturas y su precipitación anual encasillan al estado como una región particularmente complicada para cubrir las necesidades nutricionales en la producción animal. Esto genera un panorama complejo en la ganadería, ya que la manutención de un hato ganadero demanda muchos recursos limitados y una importante cantidad de nutrientes que son provistos por cultivos agrícolas y forrajeros tanto de cosecha interna como externa, pero en gran medida son insumos importados como lo registra Servicios de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2015); esto se relaciona con la necesidad de buscar estrategias tecnológicas en los procesos productivos (Guerrero y Fuentes, 2015) para alcanzar metas de calidad y costos razonables, para que les permita a los pequeños productores en el

estado participar en redes de valor competitivas y eficientes (Iruegas, 2016) como proveedores de insumo animal de calidad competente.

La principal limitante en la ganadería tropical está determinada por la fluctuación en la cantidad y calidad de los recursos forrajeros (Posada y Noguera, 2005); en Yucatán el pastoreo de gramíneas representa la base principal de las dietas en los sistemas de producción, sin embargo la calidad de estos es de media a baja dependiendo del manejo, estado de madurez y época del año (Sandoval y Belmar, 2003), ya que los forrajes de origen tropical presentan menor contenido de proteína cruda, concentraciones altas de materia fibrosa, menor digestibilidad y menor consumo voluntario, además de mostrarse daños en el área establecida por mal manejo de los recursos naturales (Palma, 2005), lo que repercute directamente en los parámetros productivos y reproductivos del ganado (Enríquez *et al.*, 1999).

Lo anterior ha generado que pequeños productores hagan uso de árboles forrajeros para contrarrestar la baja calidad de los pastos primordialmente en época de secas; existe información documentada que respalda el uso de *Brosimum alicastrum* por los productores en la región, como fuente proteica para complementar la escasez de nutrientes en los pastos en ciertas épocas del año, gracias al potencial que presenta como un árbol adaptado a las condiciones topográficas y climáticas del estado además de su eficiente producción de biomasa y aceptabilidad por las especies animales (Yerena *et al.*, 1977); una de las ventajas de este árbol es que no requiere de manejo agronómico para mantener la calidad de su follaje, ya que no varía con la edad de la planta (Pretel, 2000), además de ser una fuente con propiedades que favorecen la producción de leche para ganado lechero con valores nutricionales más elevados en comparación con el pasto (Vergara *et al.*, 2014); esta especie forestal con su eficiente productividad en ramas y semillas así como el contenido nutricional de las mismas (Orantes *et al.*, 2012) pueden cubrir las necesidades

energéticas del ganado, dado que el almidón, la proteína y la fibra constituyen los nutrientes básicos de los alimentos (Guerrero y Fuentes, 2015) utilizados en la producción intensiva de rumiantes los cuales se pueden encontrar en hojas y semillas de *Brosimum alicastrum*.

Con el fin de mejorar el proceso productivo se han desarrollado diferentes métodos con la intención de optimizar el aprovechamiento de los ingredientes del alimento destinado para el ganado (Guerrero y Fuentes, 2015), la granulación del forraje ha presentado ciertos beneficios en el aumento de la digestibilidad ruminal lo que se ve reflejado en el crecimiento y rendimiento del ganado (Salinas *et al.*, 2013), el peletizado de forraje puede disminuir la producción de metano, debido a la rápida tasa de pasaje que contribuye a la disminución en la producción de dicho gas, lo que se traduce en una mejora de los parámetros fermentativos y disminución en la pérdida de energía alimenticia transformada en gas (Carmona *et al.*, 2005). Los métodos *in vitro* son una herramienta útil que permite recrear condiciones similares a las técnicas *in vivo* para determinar la cinética de degradación de los alimentos a través del volumen del gas liberado como producto de la fermentación, son menos costosos y más eficientes con respecto al tiempo en que se realizan los procesos, en comparación con los efectuados en campo, esto debido a la implementación de laboratorios (Posada y Noguera, 2005); este tipo de técnicas se han utilizado para evaluar el potencial de los alimentos (Sandoval *et al.*, 2003b) y el aporte de nutrientes en los rumiantes.

La necesidad de usar especies forrajeras que impacte en la economía y sean prácticas de implementar, además de estar adaptadas al trópico y sirvan como fuente de proteína para la producción ganadera resulta ser un punto nodal para la subsistencia de pequeños y grandes productores en la región; aunado a esto la posibilidad de reducir un porcentaje de las importaciones de granos para la elaboración de alimentos pecuarios aprovechando recursos

locales promete ser un aspecto benéfico para la sustentabilidad de la ganadería en el estado. Por tal motivo el objetivo general del siguiente trabajo fue hacer pellets de hojas y semillas de *Brosimum alicastrum* respectivamente y evaluar la producción de gas *in vitro* así como la digestibilidad de ambos tratamientos para conocer los efectos del peletizado de *Brosimum alicastrum* como alternativa potencial en la industria pecuaria, teniendo como eje principal la sostenibilidad y eficiencia de un sistema de producción ganadero.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto del peletizado en la producción de gas *in vitro* y digestibilidad *in vitro* de la materia seca del forraje y la semilla de *Brosimum alicastrum*.

### **2.2 Objetivos específicos**

Caracterizar las curvas de producción de gas *in vitro* de forraje y semilla de *Brosimum alicastrum* peletizado.

Determinar la digestibilidad de la materia seca de semillas y forraje peletizados de *Brosimum alicastrum*.

### **2.3 Hipótesis**

El peletizado mejora la degradabilidad de la semilla y forraje de *B. alicastrum* con una menor producción de gas en la fermentación.

### 3 FUNDAMENTO TEÓRICO

#### 3.1 *Brosimum alicastrum*

El Ramón (*Brosimum alicastrum Swartz*) tiene una distribución natural en la parte central, sur y oriente en Yucatán, ya que forma parte de la composición de la selva baja y mediana subcaducifolia; en la actualidad se pueden observar ejemplares en casi todo el territorio del estado, siendo parte importante de la estructura de huertos familiares mayas en comunidades rurales y como árbol de ornato en parques (Morales y Herrera, 2009), jardines y áreas verdes por su sombra. Es un árbol perenne, ampliamente conocido por los pobladores del estado de Yucatán, muy apreciado en la ganadería por poseer follaje con altos contenidos nutritivos para el ganado vacuno y caprino principalmente (Martínez *et al.*, 2005).

Tabla 1

*Ciclo fenológico y reproductivo de Brosimum alicastrum en el estado de Yucatán*

Tomado de Morales y Herrera (2009).

ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC
Con presencia de follaje											
Con floración abundante	Con floración escasa									Sin floración	
Sin fruto			Con fruto maduro abundante			Con fruto maduro escaso					

Es un árbol de porte mediano a grande de 12 hasta 20 m de altura y con un diámetro a la altura del pecho de hasta 1 m. Su tronco es derecho con contrafuertes grandes, con ramas

ascendentes y luego colgantes (Meiners *et al.*, 2009). Morales y Herrera (2009), la caracterizan como una especie dioica que produce flores y frutos. En la Tabla 1 se presenta el ciclo fenológico reproductivo del *Brosimum alicastrum* donde se destacan los meses del año con mayor abundancia en producción.

Tabla 2

*Composición proximal en porcentajes del extracto de almidón de Brosimum alicastrum y caracterización fisicoquímica comparado con maíz.*

Tomado de Pérez *et al.* (2013)

Componente	Ramón	Maíz
Lípidos	0.47 ± 0.04	0.49 ± 0.04
Fibra Cruda	1.27 ± 0.91	1.24 ± 0.72
Proteína	0.12 ± 0.03	0.03 ± 0.03
Amilosa	25.36 ± 2.37	27.33 ± 0.56
Amilopectina	74.64 ± 2.37	72.67 ± 0.56
Almidón total	92.57 ± 2.89	98.86 ± 0.47

Valores expresados como la media ± la desviación estándar (n=3)

**3.1.1 Frutos y semillas.** Como resultado de la floración se pueden encontrar frutos casi todo el año, sin embargo el periodo de mayor abundancia es en los meses de enero a febrero en el sur y de abril a junio en el centro y norte; en la zona norte, específicamente en la ciudad de Mérida se han observado frutos maduros desde abril hasta junio; y en el sur se han encontrado ejemplares con frutos maduros en los meses de septiembre, enero y febrero. Los frutos son bayas

de 2 a 2.5 cm de diámetro, globosas con pericarpio carnoso, presenta coloración verde cuando esta inmaduro y verde amarillento a anaranjado rojizo al madurar, con sabor y olor dulces. Cada fruto contiene una semilla de 1.5 a 2 cm de diámetro cubierta de una testa papirácea amarillenta, con los cotiledones montados uno sobre el otro de sabor dulce, las cuales están clasificadas como recalcitrantes (Muñoz *et al.*, 2012). En la Tabla 3 se muestra una compilación de valores nutricionales obtenidos para la semilla de *Brosimum alicastrum* reportados en la literatura. Una de las principales características para la utilización de la semilla en la alimentación es su contenido de almidón, ya que es comparable con el contenido en otros granos y cereales, Pérez *et al.* (2013) realizó un estudio donde comparo el extracto de almidón extraído de la semilla de *Brosimum alicastrum* y lo comparo con el de maíz, además de diferenciar las características fisicoquímicas del almidón de Ramón (Tabla 2). Por su parte Kubra (2010) caracteriza a las semillas ricas en almidón, calcio, potasio, hierro, ácido fólico, fibra y vitaminas A, E, C y B en comparación con los valores nutricios de la soya.

**3.1.2 Follaje.** El árbol de *B. alicastrum* presenta una copa piramidal y densa. Sus hojas son alternas simples de color verde oscuro, brillante en el haz y verde grisáceas en el envés, ovado lanceoladas a ovadas o elípticas (2-7.5 cm de ancho por 4-18 cm de longitud), presenta un ápice agudo o notablemente acuminado en las hojas jóvenes, en plantas juveniles, las hojas son ásperas al tacto, tienen los bordes dentados y el ápice largamente acuminado (Muñoz *et al.*, 2012). En la Tabla 4 se muestra una compilación de valores nutricionales para el follaje de *Brosimum alicastrum* por diferentes autores, sin embargo Villanueva y Rubio (2016a) mencionan que la calidad y la productividad varía de acuerdo a la zona y meses en los que se realice la poda, por lo que se recomienda cosechar el follaje con intervalos de poda de entre 12 a

16 meses ya que con este manejo (Mendoza *et al.*, 2000), se maximiza la producción de follaje sin perjudicar su valor nutritivo.

Tabla 3

*Componentes nutricionales para semilla de Brosimum alicastrum*

Componentes	% (Cruz, 1998)	% (Lozano <i>et al.</i> , 1978)	% (Villanueva <i>et al.</i> , 2016b)	% (Carter, 2015)
Proteína cruda	9.6	10.87	8.81	13
Extracto etéreo	0.6	1.80	-	1.3
Fibra cruda	3.3	5.99	-	-
Cenizas	6.1	4.07	3.11	3.9
Materia seca	87.5	-	-	-
Humedad	12.2	-	-	-

**3.1.3 Ramón para la alimentación animal en comparación con los pastos.** En Yucatán el Ramón es muy apreciado por ser un árbol forrajero caracterizado por su uso importante productividad en el periodo seco de noviembre a abril para la alimentación de rumiantes, utilizado ampliamente por productores de bajos recursos (Pérez *et al.*, 1995; Villanueva y Rubio, 2016a). Se reporta que las hojas son altamente digestibles (> 60%) y contiene hasta el 13% de proteína, este forraje se le da como alimento al ganado vacuno, caprino y porcino principalmente (Morales y Herrera, 2009). El ganado consume de este, frutos y hojas que levanta del suelo cuya caída en ambos elementos es coincidente (Carranza *et al.*, 2003). Soto (1983) la encasillo como una especie con alto contenido proteico destinada para la alimentación de rumiantes, teniendo un efecto aceptable en la condición corporal de los animales especialmente para las épocas de secas que son abril y mayo (Jiménez *et al.*, 2008) debido a que la calidad de los forrajes tiende a generar bajos niveles de nitrógeno con altos niveles de lignificación, lo cual está directamente

relacionado con la digestibilidad del material, interfiriendo con el aprovechamiento que los animales puedan alcanzar del forraje, además de ser la estacionalidad una característica influyente en la calidad de los pastos (Cárdenas *et al.*, 2003).

Tabla 4

*Componentes nutricionales para forraje de Brosimum alicastrum.*

Componente	% (Soto, 1983)	g/kg (Delgado y Santos, 2002)	% (Martínez <i>et al.</i> , 2010)	% (Plata <i>et al.</i> , 2009)
<i>Follaje de Brosimum alicastrum</i>				
Materia seca	75.1	-	40,3	56.40
Humedad	24.8	-	-	-
Ceniza	3.4	40.7	-	-
Proteína cruda	10.4	-	15,5	15.90
Fibra cruda	6.7	-	-	-
EE	0.8	-	-	-
FDN	-	415.0	35,8	41.10
FDA	-	298.0	25,1	-
Lignina	-	58.0	1,6	-
Celulosa	-	225.0	23,5	-
Hemicelulosa	-	117.0	10,7	-

Extracto etéreo (EE), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente acida (FDA).

De igual manera Parsi *et al.* (2001), menciona a la lignina como el principal factor crítico que afecta a la digestibilidad, encontrándose junto al sílice en cantidades variables en la proteína cruda, lo cual está directamente relacionado con un menor consumo voluntario. Por otra parte la disponibilidad de materia seca reportada por Abaunza *et al.* (1991), es 2.3 t/ha para *Brachiaria brizantha* y 1.4 t/ha para *Panicum máximum*, mientras que Ayala y Sandoval (1995) reportan para Ramón una producción de 2.087 kg/ha anual en una densidad de 40,000 plantas por hectárea. En la Tabla 5 se muestran algunos valores para proteína cruda y otros elementos de algunos pastos de uso común en la ganadería convencional, cuyos valores al ser comparados con

los reportados para *Brosimum alicastrum* resultan favorables para este último ya que el Ramón está por encima de los pastos de baja calidad y mantiene una calidad competitiva con los pastos de mayor calidad como alfalfa y sorgo.

Tabla 5

*Porcentajes de composición nutricional para pasturas y digestibilidad de la materia seca*

Tomado de Abaunza *et al.*, (1991) y Parsi *et al.*, (2001)

Gramínea	PC	MS	DMS
B. brizantha*	13.5	-	60.8
P. máximum*	13.4	-	48.2
Alfalfa**	21.2	20.9	62.5
Sorgo sudan**	11.9	28.3	64
Maíz**	9.8	31	62.6

\*En época de máxima precipitación y solo se analizaron las hojas; la digestibilidad de la materia seca (DMS) se determinó por el método *in vitro*. Proteína cruda (PC), materia seca (MS). \*\* (Parsi *et al.*, 2001).

### 3.2 Metabolismo digestivo de rumiantes

El tubo digestivo de los rumiantes difiere anatómica y fisiológicamente de los animales monogástricos debido a la presencia, entre el esófago y el estómago (abomaso), de un compartimento pregástrico denominado retículo-rumen. El rumen posee gran cantidad de microorganismos encargados de fermentar y digerir los alimentos que ingiere el animal, se estima que entre el 60 y 90% del alimento que consume un rumiante se digiere en el rumen por

intervención de bacterias protozoarios y hongos. La cantidad de alimento usado en el rumen depende principalmente del tipo de dieta y que se establezcan en el rumen ciertas condiciones fisicoquímicas que optimicen el crecimiento microbiano, así como la degradación y fermentación del alimento consumido (Shimada, 2015). Los beneficios que obtiene el animal de la simbiosis entre los microorganismos ruminales son de carácter digestivos y nutritivos, entre las más conocidas están el desdoblamiento de glucosa, digestión de hemicelulosa, uso de nitrógeno no proteico como fuente de proteína y cierta inmunidad al consumo de alimentos contaminados entre otras, estas se ven resumidas en la producción de ácidos grasos volátiles una fuente importante de energía para el rumiante y gases de desecho como CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> (Fernández, 2012).

**3.2.1 Factores que modifican la eficiencia microbiana.** Si el rumen no posee un medio ambiente adecuado para la proliferación de los microorganismos, estos crecerán lentamente y tardaran más en digerir los alimentos, y por ende, los nutrimentos disponibles para el animal serán menores; una baja actividad microbiana también está relacionada con un bajo consumo de alimento dado que una digestión lenta mantendrá el rumen lleno más tiempo impidiendo el consumo de más alimento. La población del rumen requiere un mínimo de 7% de proteína para un eficiente funcionamiento aunado a esto la calidad de los pastos en relación a la edad y época son variables que se verán reflejadas en la productividad de los microorganismos del rumen y directamente sobre la ganancia de peso del animal (Sandoval y Belmar, 2003).

**3.2.2 Características del medio ambiente ruminal.** De manera simple, parte de las condiciones ambientales del rumen las aporta el animal a través de la saliva, temperatura corporal, movimientos ruminales, rumia y eructo; mientras que otras, se establecen con la actividad fermentativa de los microorganismos ruminales (Shimada, 2015). La temperatura interna va desde los 38 a los 40.5 °C pero generalmente se mantiene constante a 39°C, el pH con

una mínima de 6.1 y máxima de 7.2 (Fernández, 2012). La rumia implica complejas ondas de contracción que se expanden por todo el rumen y son coordinadas con la remasticación y el paso del alimento a lo largo del tubo digestivo, esto es necesario para una eficiente degradación mecánica del alimento. Los ciclos de contracción se dan entre el rumen y el retículo para mezclar el alimento ingerido y los microorganismos. El proceso de mezcla causa una separación del alimento y productos de fermentación dentro del rumen: las partículas más grandes flotan en la superficie mientras que las pequeñas se depositan ventralmente y el gas producto de la fermentación de dichas partículas se acumula sobre el fluido (García y Gingins, 1969).

**3.2.3 Degradación del almidón y la fibra en el rumen.** El almidón dentro del rumen se fermenta en ácidos grasos volátiles y la proteína se degrada en cetoácidos y amoníaco gracias al trabajo de los microorganismos ruminales; este último es la principal fuente de nitrógeno para la síntesis microbiana. La digestión de las fracciones potencialmente degradables del almidón y la proteína pueden describirse por medio de un modelo cinético de desaparición de este comportamiento (Shimeda, 2015). La mayor parte de los ácidos grasos volátiles (AGV) formados contienen de dos a cuatro átomos de carbono, y constituyen por si solos el 70 % de las necesidades de energía del rumiante (Hill *et al.*, 2006); Fernández (2012), menciona que este grupo de AGV se compone en un 95 % de ácido acético, propionico y butírico, en una relación aproximada de 70:20:10.

El almidón está compuesto por amilopectina el componente más abundante mientras que la amilosa es el componente minoritario, ambos están unidos por puentes de hidrogeno. Las regiones cristalinas son resistentes a la entrada de agua y al ataque enzimático, mientras que las partes amorfas son más permeables y susceptibles al ataque de las enzimas aunque se encuentra restringida por los enlaces de la amilosa con la amilopectina (Rooney y Pflugfelder, 1986).

La fibra se compone de un entramado de celulosa, hemicelulosa y lignina. Se le ha definido en términos de fibra bruta (FB), fibra detergente neutro (FDN) y ácido (FDA); en la Tabla 6 se muestran los porcentajes de los distintos componentes que conforman la fibra detergente neutra para algunas pasturas reportado por Parsi *et al.* (2001). La fibra se fermenta en el rumen lentamente por la acción de las bacterias fibrolíticas, estas producen glucosa o pentosas como productos intermedios y utilizan vías fermentativas que conducen a la producción de acetato como producto final (Shimeda, 2015).

**3.2.4 Origen del gas.** La energía para el crecimiento microbiano es derivada de la fermentación de los carbohidratos, principalmente almidón y celulosa, cuya digestión anaerobia produce ácidos grasos volátiles (AGV), succinato, formato, lactato, etanol, dióxido de carbono, metano y trazas de hidrógeno ( $H_2$ ). Los dos principales gases producidos durante la fermentación son anhídrido carbónico conocido mejormente como dióxido de carbono ( $CO_2$ ) y metano ( $CH_4$ ), estos gases son eliminados por vía sanguínea o por medio de la erupción de acuerdo con lo dicho por García y Gingins (1969); sin embargo, ellos también aportan esqueletos de carbono esenciales para la síntesis de biomasa microbiana. La producción de gas desde la fermentación de la proteína es relativamente pequeña (Posada y Noguera, 2005) y la derivada desde la grasa es insignificante.

El gas directo se produce principalmente cuando el sustrato es fermentado hasta acetato y butirato, mientras que la producción de propionato sólo genera gas indirectamente. Por lo tanto, las variaciones en la proporción de los diferentes ácidos grasos de cadena corta relacionada con el tipo de sustrato fermentado, pueden dar lugar a diferencias en el volumen de gas producido (Fondevila y Barrios, 2001).

Tabla 6

*Porcentajes de la composición química en materia seca de los diferentes componentes de la pared celular de pasturas*

Tomado de Parsi *et al.* (2001)

Pastura	Pared celular	Hemicelulosa	Celulosa	Sílice
Leguminosa				
Alfalfa	51	11	29	11
Gramínea				
Pangola	68	26	33	8
Guinea	66	24	33	5

Una vaca lechera de alta producción, que tiene un alto consumo de alimento, puede producir unos 600 litros de gas por día, mismo que tiene que ser eructado para no provocarle problemas respiratorios al animal (Van y Regueiro, 2008), en la Tabla 7 se muestra una comparación entre la composición del gas ruminal y el de la atmosfera.

### **3.3 Peletización de alimento animal**

Con el fin de mejorar el proceso productivo se han desarrollado diferentes metodologías con la intención de optimizar el aprovechamiento de los ingredientes del alimento destinado a las distintas clases de ganado (Guerrero y Fuentes, 2015). El peletizado consiste en la aglomeración de las pequeñas partículas de una mezcla en unidades largas o comprimidos densos mediante un proceso mecánico combinado con la humedad, el calor y la presión; todo ello determina un mejoramiento en las características de los alimentos (Behnke, 2010), desde un punto de vista

nutricional el peletizado posibilita un aumento natural de la energía líquida en las dietas, debido a la gelatinización de los carbohidratos, reduce el gasto energético en la aprehensión de los alimentos (Mckinney y Teeter, 2004), e incrementa de manera considerable la digestibilidad del contenido proteico y por ende de los aminoácidos y demás nutrientes de la ración.

Tabla 7

*Composición del gas del rumen y de la atmosfera (%)*

Tomado de Van y Regueiro (2008).

Gas	Formula química	Rumen	Atmósfera
Dióxido de carbono	CO <sub>2</sub>	65	0.04
Metano	CH <sub>4</sub>	27	-
Nitrógeno	N <sub>2</sub>	7	78.6
Oxígeno	O <sub>2</sub>	0.6	20.8
Hidrogeno	H <sub>2</sub>	0.2	-
Sulfhídrico	H <sub>2</sub> S	0.01	-

Otras ventajas sobre el proceso de peletizado de alimentos son mayor vida útil del alimento, mejor manejo, menor desperdicio en raciones, mejor conversión alimenticia y aumento en la palatabilidad, además de poder adicionar desparasitante y vitaminas a las mezclas; sin embargo, hay varios factores que afectan la calidad del pellet como el transporte, almacenaje, manipulación y carga (Maya, 2016).

**3.3.1 Parámetros de uso de la peletizadora.** Para lograr un proceso óptimo de granulación del forraje es necesario que el material deshidratado ingrese con una humedad no mayor al 12% y el tamaño de partícula de forraje que ingresa a la máquina deber ser menor a 7 mm. El proceso de peletización inicia con el ingreso del forraje extruido de forma continua a la cámara de granulación, luego es cortado por una cuchilla a una longitud deseada, esto según el ajuste que se le dé. Es necesaria aplicar una fuente de aglutinación para lograr una buena consistencia del pellets, cuyo porcentaje de humedad de salida va de 12 a 15 % (Paulino, 2013).

**3.3.2 Efecto del peletizado en el rendimiento animal.** El peletizado de forraje es uno de los factores preponderantes en el procesamiento de estos que pueden disminuir fuertemente la producción de gas, esto debido a la rápida tasa de pasaje que contribuye a la disminución en la producción de gases, lo que se traduce en una mejora de los parámetros fermentativos y disminución en la pérdida de energía alimenticia transformada en gas (Carmona *et al.* 2005); en un experimento realizado con vacas lecheras Simmental se presentó una reducción de la relación acetato: propionato por debajo de 3.80:1 a 3.54:1 respectivamente al ser alimentadas con pellets de follaje, de igual manera se observó un aumento para la proteína de la leche y el nivel de lactosa (Tyler y Aston, 1976), mientras que el contenido de urea y grasa en la leche disminuyeron, además que el pH ruminal fue significativamente menor (Knaus *et al.*, 1999; Ramírez *et al.*, 2016).

De acuerdo con McMillian (2004) la digestibilidad aumenta significativamente implementando pellets de alfalfa como suplemento, lo cual está relacionado con lo mencionado por Salinas *et al.* (2013) donde dice que la granulación puede dar lugar a la desnaturalización parcial de las proteínas, un proceso que puede mejorar potencialmente la proteína y en cierta medida la digestibilidad del almidón debido a la inactivación de inhibidores proteicos de la

enzima, también puede generarse una mayor accesibilidad de los contenidos nutricionales, con una digestión ruminal mayor para peletizado generando un pH ruminal menor y crecimiento en el rendimiento del ganado, comparado con el forraje en su presentación normal.

Por su parte Gujja *et al.* (2013) menciona que la suplementación con pellets de forraje mejora los rendimientos de los animales y la reducción de la carga de helmintos en pastoreo en cabras jóvenes, lo que es útil para el control en pequeños rumiantes, sin embargo, debido a los procesos mecánicos y fisicoquímicos que implica la peletización de la biomasa vegetal para la creación de gránulos, pueden generarse efectos benéficos o perjudiciales sobre los componentes de la alimentación, desarrollo gastrointestinal y el rendimiento animal (Svihus *et al.*, 2005); en dietas basadas en cereales viscosos, la granulación puede afectar negativamente esto, debido al aumento de viscosidad de la digesta como resultado de un aumento en la concentración de hidratos de carbono solubles (Abdollahi *et al.*, 2012; Prestlokken, 1999) o cambios en el peso molecular de las fibras solubles; sin embargo, aún se continua discutiendo los efectos de la digestión en rumiantes y no rumiantes (Svihus *et al.*, 2005).

### **3.4 Procedimiento *in vitro* para evaluar alimentos en rumiantes**

Posada y Noguera (2005), mencionan que el desempeño productivo de los rumiantes está en función del valor nutricional de la dieta que consumen. La evaluación del valor nutricional puede realizarse por métodos *in vitro*, dentro de este se encuentra la técnica de producción de gases, la cual a diferencia de otras técnicas, no sólo determina la extensión, sino también la cinética de degradación del alimento a través del volumen de gas liberado, directamente como un producto de la fermentación, principalmente cuando se produce mayor proporción molar de acetato y butirato, e indirectamente desde la neutralización del fluido ruminal. La técnica de

producción de gases emplea sustratos molidos, medio anaeróbico, temperatura de 39°C e inóculo ruminal (Vargas *et al.*, 2013). Los perfiles de producción de gas obtenidos pueden ajustarse a diferentes ecuaciones para resumir la información cinética, permitiendo la comparación de los sustratos, la evaluación de diferentes ambientes de fermentación y la obtención de las tasas de fermentación de los constituyentes solubles y estructurales. Una ventaja de este tipo de metodologías es que la inversión económica y el tiempo para realizar la técnica resultan menores que el uso de técnicas *in vivo* (Díaz, 2014), además de favorecer las condiciones para el desarrollo experimental, esto debido a la implementación de laboratorios (Villegas *et al.*, 2010).

## 4 DESARROLLO DEL PROYECTO

La colecta del material vegetal para este trabajo se realizó en un predio particular en el centro del estado de Yucatán cuyas coordenadas son 20.9420757, -89.6346285 latitud y longitud respectivamente; el procesamiento de las muestras de *Brosimum alicastrum*, el análisis bromatológico y la determinación de digestibilidad de la materia seca a través de la producción de gas *in vitro*, se realizaron en el Parque Científico Tecnológico de Yucatán con latitud 21.131257 y longitud -89.781006, en las unidades de Centro de Innovación Tecnológica y laboratorios del Banco de Germoplasma pertenecientes al Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY). Se evaluó el forraje y la semilla de *Brosimum alicastrum*. La presentación natural se contrastó con la presentación peletizado de los mismos en un estudio de digestibilidad *in vitro*.

### 4.1 Muestras

**4.1.1 Colecta de *Brosimum alicastrum*.** La colecta fue realizada por la mañana. Se seleccionaron los mejores individuos evaluando sus características fenotípicas como árboles de porte mediano, de entre 5 y 7 años de edad, así como sus antecedentes de producción de biomasa de acuerdo a lo expresado por los dueños del predio. La colecta de hojas se realizó de ramas maduras de la parte media del árbol y las semillas se tomaron de frutos maduros del suelo.

**4.1.2 Procesamiento de *Brosimum alicastrum*.** El material vegetativo colectado y clasificado se sometió a un proceso de limpieza donde se separaron las hojas de los tallos de ramas y las semillas de los frutos; posteriormente se pesaron para determinar el peso fresco en ambas presentaciones. Finalmente se introdujeron a una estufa de secado marca Binder a 55 °C durante 48 h hasta obtener peso constante, al finalizar su secado se determinó el peso seco

mediante la diferencia del peso perdido. Las muestras secas se molieron en un molino marca Siemens con una criba de 1mm.

**4.1.3 Valor nutricional de *Brosimum alicastrum*.** Se envió a un laboratorio comercial harina de semilla de Ramón para realizar el análisis químico, cuyos parámetros incluyeron la determinación de la proteína cruda, grasa cruda, fibra cruda, cenizas y humedad por los métodos oficiales de la AOAC 2012 (984.13, 920.39, 962.09, 942.05 y 930.15 respectivamente). Los valores para la hoja fueron los realizados por Larqué-Saavedra (2014) y presentados en la gaceta del Siidetey.

**4.1.4 Peletizado de *Brosimum alicastrum*.** Para la elaboración de los pellets de hoja y semilla de Ramón se utilizó una máquina para peletizado animal (Figura 1) que consta de barreno en dado de  $\frac{1}{4}$  de diámetro, con un motor eléctrico 330 v de 20 caballos de fuerza trifásica, interruptor eléctrico, con capacidad de trabajo de 350 – 500 kg/h, con un diámetro final de pellets de 6 mm y una temperatura de salida de 60 a 90 °C.



*Figura 1. Máquina para peletizar.*

Para lograr un proceso óptimo del manejo de las muestras deshidratadas en la máquina fue necesario mezclar la harina de semillas y la harina de hojas respectivamente con agua para que alcanzaran la humedad necesaria para su ingreso a la cámara cuya humedad no debe ser mayor al 12%. Esta posee una prensa de rodillos que presionan el material sobre una matriz, la cual tiene agujeros que son el molde de los gránulos. Estos rodillos gemelos giran cada uno sobre su propio eje y a la vez ambos están pegados a un rotor que giran en un eje común, con el fin de desplazar los rodillos sobre la superficie de la matriz; este trabajo mecánico se encargó de presionar el material para que pasara a través de los agujeros de la matriz por una presión extrema, y tuviera como resultado el pellets (Figura 2 y 3), los cuales se secaron en una estufa de secado por convección natural marca Binder a 50 °C durante 8 horas para quitar el exceso de humedad.

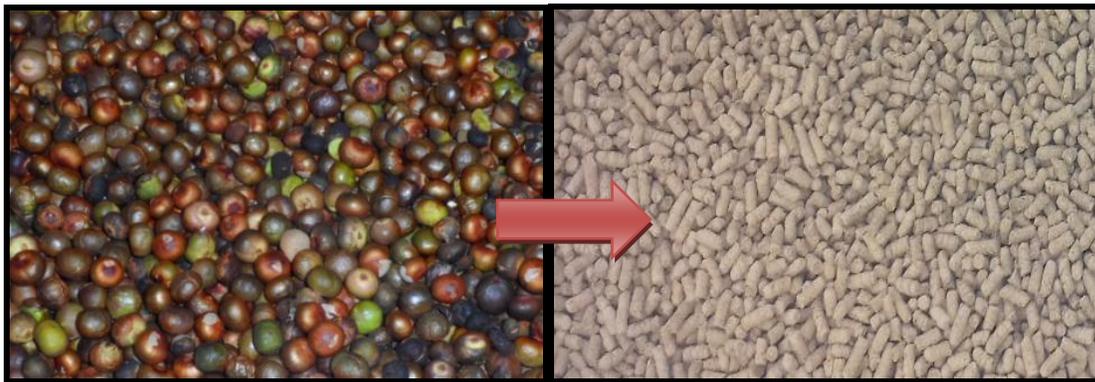


*Figura 2. Pellets de hoja de Brosimum alicastrum.*

#### **4.2 Digestibilidad *in vitro***

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca, se realizó con la metodología de Teodorou descrita por Meza *et al.*, (2014) con las adecuaciones mencionadas por Pinacho *et al.*, (2009).

**4.2.1 Inóculo ruminal.** La obtención del inóculo ruminal se realizó colectando líquido ruminal de dos animales con peso vivo de 400 kg aproximadamente, en ayuno. Esta se hizo inmediatamente después del sacrificio Se colectó fase acuosa de fluido ruminal y material sólido en un termo previamente calentado a 40°C, el transporte de lugar de muestreo al laboratorio tuvo una duración de 15 minutos, en condiciones totalmente anaeróbicas. Se realizó una mezcla de ambos fluidos ruminales colectados, la cual se homogenizó en una licuadora marca Osterizer con vaso de vidrio durante 30 segundos a alta velocidad, manteniendo la temperatura de 39°C, en seguida se filtró por cuatro capas de gasa de 25 cm en un embudo y matraz hasta obtener suficiente para todos los frascos de digestión. El líquido se mantuvo en baño maría a 39°C, saturado con CO<sub>2</sub> durante el tiempo que demoro la inoculación.



*Figura 3. Pellets de semilla de Brosimum alicastrum.*

**4.2.2 Medio de cultivo.** Este constó de una solución amortiguadora (buffer) y dos soluciones de macro y micro minerales respectivamente (Tabla 8), además de contener caseína rezasurina, cisteína y agua destilada; los componentes se depositaron en un vaso de precipitado sobre una parrilla con agitador en presencia de CO<sub>2</sub> hasta alcanzar la ebullición (Figura 4).

**4.2.3 Metodología para la digestión de las muestras.** Se pesaron 200 mg para cada tratamiento (Figura 5), los cuales se depositaron en frascos de vidrio con capacidad de 120 ml por triplicado y perfectamente identificados, a los cuales también se les adicionó 2 ml de agua destilada a 39°C, 14 ml del medio de cultivo y 4 ml de inóculo ruminal, todo esto en presencia de CO<sub>2</sub> e inmediatamente se taparon con tapones de caucho y sellaron con cintas de aluminio.



*Figura 4. Preparación del medio de cultivo.*

Se agregaron tres frascos sin muestra, únicamente con medio de cultivo e inóculo ruminal para el factor de corrección de la presión generada por la utilización de CO<sub>2</sub>, y la presión producida por la fermentación de los microorganismos presentes en el líquido ruminal; los frascos se agitaron y se incubaron en un baño maría digital marca Kyntel a 39°C durante 96 h (Figura 6). Al finalizar el periodo de incubación el contenido de las botellas se filtró con ayuda de una bomba de vacío y un embudo de porcelana en un matraz con papel filtro de microporo, previamente secados y pesados; el residuo recuperado (Figura 7) se secó en estufa durante 48 h a 100 °C, luego se pesó y se usó para calcular por gravimetría la digestibilidad de la materia seca. La digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) fue calculada mediante la diferenciación entre la MS incubada y la MS residual contenida, para lo cual se aplicó la ecuación siguiente:

MS incubada-(MS residual – MS blanco)

$$\text{Digestibilidad MS} = \frac{\text{MS incubada} - \text{MS residual}}{\text{MS incubada}} \times 100$$

MS incubada

Tabla 8

*Elementos contenidos en el medio de cultivo para la digestión in vitro*

Solución	Componentes
Buffer	Agua destilada Bicarbonato de amonio Bicarbonato de sodio
Macrominerales	Agua destilada Fosfato de sodio Fosfato de potasio Sulfato de magnesio
Microminerales	Cloruro de sodio Agua destilada Cloruro de calcio Cloruro de magnesio Cloruro de cobalto Cloruro de hierro



*Figura 5. Frascos con muestra, medio de cultivo e inoculo ruminal.*



Figura 6. Incubación de tratamientos a 39°C en baño maría.



Figura 7. Residuo de tratamientos previamente filtrados después de 96 h de incubación.

**4.2.4 Metodología para determinar la producción de gas.** La técnica que se utilizó para la producción de gas *in vitro* fue la descrita por Theodorou (Sandoval *et al.*, 2002), donde se determinó el volumen de gas acumulado en el espacio de cabeza de la botella con ayuda de una jeringa conectada a una válvula de tres vías (Figura 8), la primera salida estaba conectada a una aguja que era la que se introducía en el frasco incubado para tomar la lectura de gas, la segunda al medidor de presión y la tercera a una jeringa plástica que colectaba el gas, al finalizar cada

medición se liberaba la presión del gas hasta igualar con la presión atmosférica además de agitarse para continuar con la incubación; la presión se midió con la ayuda de un medidor de diferencial de presión (Magnehelic 2000, Dwyer Instruments), las lecturas se realizaron a las 1.5, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 24, 36, 48, 72 y 96 horas de incubación, los volúmenes de gas generados en los fermentadores blancos se restaron a todos los frascos en las horas correspondientes; se utilizó la ecuación de Groot para el ajuste del volumen de gas obtenido:

$$Y=V_f (1+ (B/t)^C)^{-1}$$

Dónde:

Y= volumen de gas a tiempo t (ml/g MS)

V<sub>f</sub>= volumen total de gas (ml/g MS)

B= tiempo en que se produce la mitad del gas (h)

C= valor de ajuste a la forma de la curva sin significado biológico (Groot *et al.*, 1996).



Figura 8. Válvula de tres vías conectada a jeringa, aguja y medidor de presión para las lecturas de la producción de gas.

### 4.3 Diseño experimental

Se realizó un diseño experimental completamente al azar, donde cada tratamiento se realizó por triplicado, utilizando líquido ruminal como fuente de inóculo. Cuatro tratamientos, forraje y semilla *vs* pellets de forraje y semilla (CHBa, PHBa, CSBa, PSBa), más tres blancos (N=15).

Se utilizó una t de Student para analizar el efecto del proceso de peletizado en forraje y semilla de *Brosimum alicastrum*, sobre la digestibilidad *in vitro* de la materia seca. La producción de gas *in vitro* se analizó con los parámetros obtenidos del ajuste de los datos al modelo de Groot *et al.*, (1996) a través de una regresión no lineal. Los mejores parámetros de ajuste al modelo de Groot, fueron comparados entre sí, utilizando un test F sobre la extra suma de cuadrados donde la tasa de F cuantifica el incremento relativo en la suma de cuadrados y el incremento relativo en los grados de libertad (análisis de varianza), utilizando el programa estadístico Graphpad Prism 5.0.

## 5 RESULTADOS Y DISCUSION

El peso seco de hoja y semilla de *B. alicastrum* fue de 40.5 y 42.5 % respectivamente, mantiene una concentración aceptable de proteína cruda (Tabla 9) tanto para las hojas como para la semilla, siendo esta de 12 % en hojas y 10.96 % en semillas, el valor para hojas está dentro del rango reportado por la literatura que va desde el 10 al 15 % dependiendo las condiciones de la fuente colectada (Soto, 1983) por otra parte el valor obtenido para la semilla es similar al registrado por Lozano *et al.* (1978) con 10.87 %, los valores para fibra fueron 3.51 y 38 para semilla y hoja respectivamente, el extracto etéreo o grasa fue de 0.52 y 2.3 respectivamente, la ceniza y humedad solo se determinaron para semilla de *Brosimum alicastrum*.

Tabla 9

*Composición química de Brosimum alicastrum.*

Parte de <i>Ba</i>	PC	FC	EE	Ceniza	Humedad	PS**
Semilla %	10.96	3.51	0.52	3.31	9.7	42.5
*Follaje g	12	38	2.3	-	-	40.5

Proteína cruda (PC), fibra cruda (FC), extracto etéreo (EE), *Brosimum alicastrum* (*Ba*). \*valores proporcionados por Larqué-Saavedra en gaceta siidetey (2014), porción en 100 g de hoja.

\*\*valores en porcentaje obtenidos por diferencia de pesos al secado en estufa.

De acuerdo a los resultados obtenidos la DIVMS (Tabla 10), para semilla peletizada fue de  $88.4 \pm 8.4$  % y sin peletizar de  $83.6 \pm 2.5$  %, similares a lo que reporta Villanueva *et al.*, (2016b) cuyos valores son por arriba del 70 %; no hubo diferencias significativas en el efecto de

peletizado sobre la DIVMS para ninguno de los tratamientos y su respectivo control, los valores para hoja peletizada y no peletizada fueron  $60.9 \pm 2.4$  y  $64.1 \pm 6.8$  % respectivamente; el peletizado no altera la digestibilidad de la materia seca de hojas y semillas de *Brosimum alicastrum*, sin embargo hay una marcada diferencia consistente entre la digestibilidad de hojas y semillas tanto en los tratamientos control como para peletizado (Tabla 11), la cual se explica por la diferencia de ataque de los microorganismos ruminales hacia la fibra y el almidón. El tratamiento con semilla de *Brosimum alicastrum* sin peletizar presentó el valor más elevado de producción de gas con 305.6 ml ( $R^2$  .9626), fue menor para semilla peletizada con una producción total de 257 ml ( $R^2$  de 0.9839) y este último fue similar a la producción de gas en hojas, la cual no tubo diferencia entre peletizada y sin peletizar cuyos valores fueron 259.8 y 259.2 ml respectivamente (Tabla 12); en la Figura 9 se observan las curvas que muestran la tendencia de la cinética de producción de gas para cada tratamiento, en donde es notorio una menor producción de gas para peletizado de semilla siendo esta casi igual a la de ambos tratamientos con hoja. El peletizado consistentemente disminuye la producción de gas y esto se traduce en una reducción de pérdida de energía por metano para el animal.

El gas producido es una mezcla de CO<sub>2</sub> y metano (CH<sub>4</sub>) principalmente. La disminución de la producción de estos gases es importante por la contribución de los mismos al efecto invernadero, el 81% de la producción de gases de efecto invernadero derivados de la producción pecuaria se relaciona con los rumiantes, y el 90% es metano derivado de la fermentación microbiana del rumen (Tapio *et al.*, 2017), esto contribuye del 15 al 20 % de la producción global de gases invernadero (Sheehle y Kruger, 2006). Desde el punto de vista nutricional y económico, la producción ruminal de metano también representa una pérdida de energía en la

eficiencia nutricional, que va desde 6 a 8% del consumo pero que puede llegar al 12 % (Johnson y Johnson, 1995).

En el presente trabajo se encontró una tendencia a la disminución de metano por el proceso de peletización. Sin embargo, se ha reportado que las dietas altas en almidones favorecen la producción de ácido propiónico, que compite con la captura de electrones necesarios para la formación de CH<sub>4</sub>, mientras que la fermentación de proteína cruda genera mayor proporción de ácido acético (Restrepo *et al.*, 2016).

Tabla 10

*Digestibilidad in vitro de las hojas y semillas de Ramón, con y sin peletizado*

	Media	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95 %		Mínimo	Máximo
			Límite inferior	Límite superior		
Control Hoja	64.143 <sup>a</sup> ± 6.8	3.941	47.187	81.098	58.612	71.771
Hoja peletizada	60.915 <sup>a</sup> ± 2.4	1.431	54.759	67.072	58.225	63.105
Control Semilla	83.624 <sup>b</sup> ± 2.5	1.490	77.215	90.034	81.197	86.334
Semilla peletizada	88.438 <sup>b</sup> ± 8.4	4.898	67.364	109.512	82.511	98.156
Total	74.280 ± 13.3	3.863	65.777	82.783	58.225	98.156

Valores expresados como la media ± la desviación típica de tres repeticiones por tratamiento (n=12). Medias con literales iguales sin diferencia significativa al nivel de 0.05.

La relación de la proteína cruda con los carbohidratos estructurales encontrados marcaría la diferencia con otras semillas como el maíz, que explicarían el aumento de la producción de gas. Hironaka *et al.* (1996), midiendo la producción de metano, encontraron un efecto similar al que se describe donde el proceso de peletizado disminuye la producción de gas *in vitro*.

Tabla 11

*Comparaciones múltiples de la digestibilidad in vitro de la materia seca*

(I)	(J)	**	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite superior	Límite inferior
	Hoja peletizada	0.510	-7.563	14.017
Control Hoja	Control Semilla*	0.003	-30.271	-8.692
	Semilla peletizada*	0.001	-35.085	-13.505
	Control Hoja	0.510	-14.017	7.563
Hoja peletizada	Control Semilla*	0.001	-33.498	-11.919
	Semilla peletizada*	0.000	-38.312	-16.733
	Control Hoja*	0.003	8.692	30.271
Control Semilla	Hoja peletizada*	0.001	11.919	33.498
	Semilla peletizada	0.334	-15.603	5.976
	Control Hoja*	0.001	13.505	35.085
Semilla peletizada	Hoja peletizada*	0.000	16.733	38.312
	Semilla peletizada	0.334	-5.976	15.603

(I) Vs (J)= comparación de tratamientos para la DIVMS. \*La diferencia de medias (I-J) es significativa al nivel 0.05. \*\*Valor de significancia.

Empero, a diferencia de los resultados presentados, encontraron diferencias significativas cuando peletizaron alfalfa ya que disminuyó la DIVMS (P<0.05); durante el primer corte,

mientras que peletizar alfalfa al segundo corte no presentó diferencias estadísticas entre los parámetros. En este forraje, pese a la disminución de pérdidas energéticas como metano, los autores no encuentran beneficios económicos del peletizado del forraje, lo cual es aplicable al actual trabajo.

Tabla 12

*Perfiles de producción de gas en ml para Brosimum alicastrum*

	Mejores valores de ajuste			
	Control Hoja	Hoja Peletizada	Control Semilla	Semilla Peletizada
a	259.8	259.2	305.6	257
b	53.75	73.64	44.69	49.05
c	1.04	0.9389	0.9332	0.9038
	Error estándar			
a	80.72	81.81	51.74	30.98
b	34.3	49.21	17.58	13.91
c	0.224	0.1585	0.1222	0.07818
	95% Intervalos de confianza			
a	95.45 a 424.1	92.62 a 425.7	200.3 a 410.9	193.9 a 320.1
b	-16.06 a 123.6	-26.52 a 173.8	8.906 a 80.47	20.73 a 77.37
c	0.5834 a 1.496	0.6162 a 1.262	0.6845 a 1.182	0.7447 a 1.063
	Ajuste*			
R <sup>2</sup>	0.9085	0.9458	0.9626	0.9839
Suma de cuadrados	9628	3937	5223	1441
Sy.x	17.08	10.92	12.58	6.609

a=producción total del gas en ml, b= producción del gas a la mitad de tiempo de incubación, c= valor de ajuste a la curva sin significado biológico. \*Hipótesis nula= una curva para todos los tratamientos se rechaza (alfa=0.05). Hipótesis alterna= diferentes curvas para tratamientos es aceptada como mejor modelo de predicción del gas (P<0.0001 y F=21.71 (9,132)).

Para la reducción de la producción de metano, diferentes alternativas son propuestas por Wallace *et al.* (2007), el consumo se relaciona inversamente con la producción de gas y al nivel de mantenimiento la producción de gas alcanza su máximo; la tasa de fermentación, proporción de concentrados, antibióticos (ionóforos y no ionóforos), así como los ácidos grasos de cadenas largas.

En cuanto a peletizado de granos, equivalentes a nuestro tratamiento de semilla de ramón, se sabe que causan una defaunación del ambiente ruminal, con ausencia de protozoarios, persistente hasta 7 días después del tratamiento; a diferencia del uso de taninos para reducción de producción ruminal de metano, que asocia de manera inversa el nivel de ingesta de taninos con el volumen de gas y la DIVMS (Gemedá y Hassen, 2015) las menores producciones de metano asociadas al uso de concentrados peletizados por el efecto detrimental de la fauna del rumen, no es resultado de efectos tóxicos en las bacterias (Kreuzer y Kirchgessner, 1987), permitiendo menores producciones de gas, sin alterar la digestibilidad.

El proceso de peletizado de forrajes es recomendado para incrementar el consumo voluntario, incrementando si no la tasa de degradación o las pérdidas como metano, si la de paso, ya que de acuerdo con Judkins *et al.* (1987), la capacidad del animal (consumo voluntario) aumenta con la velocidad de paso. Las diferencias en producción de gas se observan en la Figura 9, las líneas reflejan los valores predichos por el ajuste a la ecuación de Groot (1996) con los puntos de las medias por tratamiento. Las curvas explican las respuestas ya discutidas. El origen del gas es principalmente por la acción de Archeobacterias, es especial de *Methanobacterium ruminatum*, que realiza la reducción del bióxido de carbono a metano y CO<sub>2</sub>, y la composición de la dieta (Fernández, 2012), en el presente trabajo el tratamiento físico de la misma tiene un efecto más marcado en la fuente más concentrada y de mayor degradación.

La diferencia de fermentación en la semilla por la peletización también responde a variables físicas que se ven alteradas. Hacer más duro el material puede hacerlo más resistente a la hidratación y a la penetración de enzimas, llevando a tasas de fermentación más lentas (Theurer *et al.*, 1999). El conocimiento de estos perfiles de fermentación, derivados de la prueba de gas *in vitro* con ajustes de regresión no lineal a un modelo, permite la obtención de los parámetros de degradación, estos pueden complementar el análisis proximal y realizar los cálculos de las fracciones de energía y proteína que ocurren en el metabolismo de los rumiantes. Por lo tanto evaluaciones de dietas, predicción de comportamiento e incluso formulación de dietas a mínimo costo son procesos que se requieren para alimentar las bases de datos de nutrientes con las variables obtenidas.

Todas las estrategias descritas involucran cambios en el microbioma ruminal. El desarrollo de nuevas técnicas de estudio de los organismos ruminales en ambientes anaeróbicos (Galicia *et al.*, 2014) y enfoques de estudios genómicos (Galicia *et al.*, 2011) nos permiten tener un nuevo enfoque acerca de la dinámica de las poblaciones bacterianas del rumen.

Los resultados encontrados, sin embargo, deben de seguir un proceso de modelaje para predicción de la respuesta productiva y la validación *in vivo* del modelo. Cambios en la predicción son probables por factores como alteraciones del consumo, interacciones sinérgicas o antagónicas entre los componentes de la dieta (Antonio *et al.*, 2009) y respuesta individual de los animales (Tapio, 2017).

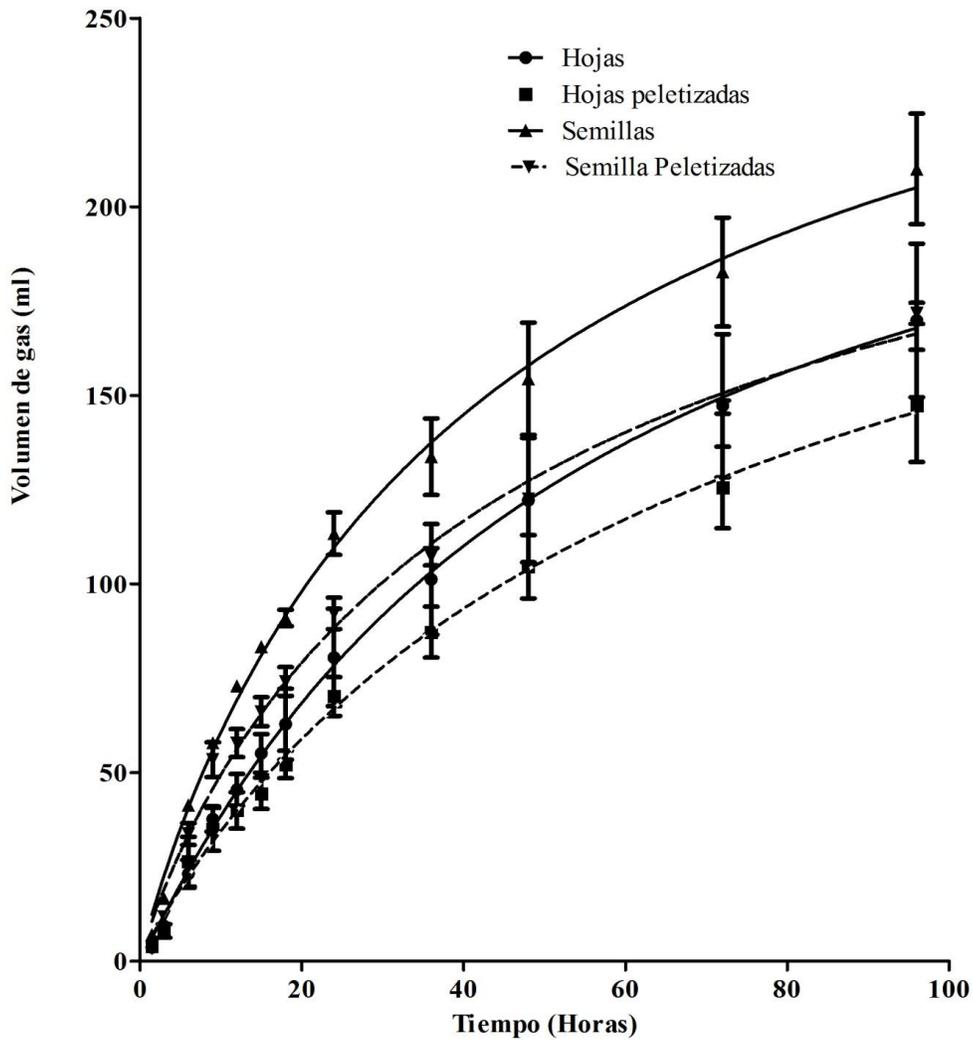


Figura 9. Cinética de producción de gas de los tratamientos para *Brosimum alicastrum*\*.

\*En la abscisa se concentran los tiempos en los que se tomaron las lecturas del gas hasta las 96 h de incubación y en la ordenada la cantidad de gas producido en ml, los puntos representan la media aritmética de tres repeticiones. Las líneas representan la tendencia de la producción de gas. La línea punteada inferior representa la menor producción de gas (semilla peletizada).

## 6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

*Brosimum alicastrum* es y seguirá siendo una alternativa forrajera por sus altas concentraciones de proteína y fácil acceso por pequeños productores para alimento animal, la peletización de sus componentes como hoja y semilla no mostraron diferencias significativas en la DIVMS y el control en el presente estudio. Se encontró un efecto positivo en la reducción del gas generado por la fermentación de los componentes, siendo este, menor para el tratamiento peletizado. No obstante, se requieren más estudios para el tratamiento de la presentación peletizada, como sería el hacer más pruebas físico-químicas del proceso de peletización, para mejorar su calidad y por consecuencia la adherencia de los microorganismos ruminales en la interacción digestiva que mantienen los poligástricos. Esto permitiría despejar y evidenciar diferencias que sustente los costos de producción. La técnica de peletizado genera una forma eficiente de resguardar la materia seca del alimento para su almacenaje y su posterior utilización en diferentes periodos del año, además de reducir las faenas en el campo para el corte, carga y transporte de forraje al hato ganadero; este ha sido el primer ensayo para industrializar Ramón como peletizado con la finalidad de facilitar el manejo y conservar las cualidades nutritivas por más tiempo, de igual forma es una contribución importante, ya que, bajo estas consideraciones se marcan las pautas a seguir para mejorar los procesos planteados en el estudio usando *Brosimum alicastrum*. Se recomienda hacer una validación *in vivo* del modelo estudiado, ya que cambios en la predicción son probables por factores como alteraciones del consumo y la respuesta individual por animal; además de considerar la mezcla de *B. alicastrum* tanto de hoja como semilla a otras fuentes de alimentación para rumiantes y estudiar las adecuaciones proporcionales apropiadas para el peletizado y evaluar los efectos que podrían tener en el rendimiento animal.

## 7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abauza, A. M., Lascano, E. C., Giraldo, H. y Toledo, M. J. (1991). Valor nutritivo y aceptabilidad de gramíneas y leguminosas forrajeras tropicales en suelos ácidos. *Pasturas tropicales*, 13(2), 2-8.
- Abdollahi, M. R., Ravindran, V. y Svihus, B. (2012). Pelleting of broiler diets: An overview with emphasis on pellet quality and nutritional value. *Animal feed science and technology*, 179(1), 1 – 23.
- Antonio, H. J., Aguilar, U. E., Sanginés, G. R., Lara, L. P., Itzá, O. M. y Magaña, S. H. (2009). Efectos asociativos en la digestibilidad *in vitro* de pasto estrella con *Hibiscus rosa-sinensis* o *Erythrina indica*. XLV Reunión nacional de investigación pecuaria Saltillo, Coahuila.
- AOAC, International y Latimer, G. W. (2012). Official methods of analysis of AOAC International. Gaithersburg, Md: AOAC International.
- Ayala, A. y Sandoval, S. M. (1995). Establecimiento y producción temprana de forraje de ramón (*Brosimum alicastrum Swartz*) en plantaciones a altas densidades en el norte de Yucatán, México. *Agroforesteria en las américas*, 2(7), 10-16.
- Behnke, K. C. (2010). El arte del peletizado. *WattAgnnet*. Tomado de <http://www.wattagnet.com/articles/5411-el-arte-ciencia-del-peletizado>

- Cárdenas, M. J., Sandoval, C. C. y Solorio, S. F. (2003). Composición química de ensilajes mixtos de gramíneas y especies arbóreas de Yucatán, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 41(3), 283- 294.
- Carmona, C. J., Bolivar, M. D. y Giraldo, A. L. (2005). 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*, 18(1), 49-63.
- Carranza, M. M., Sánchez, V. L., Pineda, L. M. y Cuevas, G. R. (2003). Calidad y potencial forrajero de especies del bosque tropical caducifolio de la sierra de Manantlan, México. *Agrociencia*, 37, 203-210.
- Carter, C. T. (2015). Chemical and functional properties of *Brosimum alicastrum* seed powder (Maya nut, Ramón nut). Master's Thesis. Clemson University. *Tiger prints*.
- Cruz, R. (1988). *La utilización del Capomo (Brosimum alicastrum Sw) en la alimentación de pollos de engorda en la etapa de finalización*. Tesis de licenciatura. Facultad de agricultura universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco.
- Delgado, O. D. y Santos, Y. (2002). Determinación del valor nutritivo del follaje de dos árboles forrajeros tropicales: *Brosimum alicastrum* y *Bauhinia galpinii*. *Revista cubana de ciencia agrícola*, 36(4), 391-395.
- Diaz, C. G. (2014). Producción *in vitro* de metano (CH<sub>4</sub>) en dietas compuestas de colosuana (*Bothriochloa pertusa*), angleton (*Dichantium aristatum*), frijol mungo (*Vigna radiata*), ensilaje de maíz (*Zea mays*) y concentrado comercial. Tesis de licenciatura. Universidad del Tolima facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Ibagué, Colombia: 25-26.

- Enríquez, Q. J., Meléndez, N. F. y Bolaños, A. E. (1999). *Tecnologías para la producción y manejo de forrajes tropicales en México*. Libro Técnico INIFAP, (7), 262.
- Fernández, S. (2012). Modulación *in vitro* de la fermentación ruminal con microorganismos nativos y potencial efecto en la emisión de metano. *Tesina de licenciatura*. Facultad de ciencias, Universidad de la Republica, Montevideo.
- Fondevila, M. y Barrios, A., (2001). La técnica de producción de gas y su aplicación al estudio del valor nutritivo de los forrajes. *Revista cubana de ciencia agrícola*, 35(3), 197-206.
- Galicia, J. M., Rojas, H. R., Sandoval, C. C. y Magaña, S. H. (2011). Possible chemotaxis in *Ruminococcus albus*: Comparative genomics. *Journal of applied animal research*, 39(3), 189-191.
- Galicia, J. M., Rojas, H. R., Sandoval, C. C., Murialdo, S. E. y Magaña, S. H. (2014). Chemotactic responses of the rumen bacterial community towards the daidzein flavonoid. *Livestock science*, 167, 121-125.
- García, T. J. y Gingins, M. (1969). Anatomía y fisiología del aparato digestivo de los rumiantes. Conferencia facultad agronomía y veterinaria UBA. Sitio argentino de producción animal. Tomado de [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)
- Gemeda, B. S. y Hassen, A. (2015). Effect of tannin and species variation on *In vitro* digestibility, gas, and methane production of tropical browse plants. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(2), 188–199.

- Groot, J. C., Cone, J. W., Williams, B. A., Debersaques, F. M. y Lantinga, E. A. (1996). Multiphasic analysis of gas production kinetics for *in vitro* fermentation of ruminant feeds. *Animal feed science and technology*, 64(1), 77-89.
- Guerrero, R. A. y Fuentes, R. J. (2015). *Procesado del grano y de la fibra: Efecto sobre el metabolismo ruminal*. Trillas. México: 5, 61-62.
- Gujja, S., Terrill, T. H., Mosjidis, J. A., Miller, J. E., Mechineni, A., Kommuru, D. S., Shaik, S. A., Lambert, B. D., Cherry, N. M. y Burke, J. M. (2013). Effect of supplemental sericea lespedeza leaf meal pellets on gastrointestinal nematode infection in grazing goats. *Veterinary parasitology*, 191(1-2), 51-58.
- Hill, R. W., Wyse, G. A., y Anderson, M. (2006). *Fisiología animal*. Décima edición. Editorial medica panamericana. 1038 p.
- Hironaka, R., Mathison, G. W., Kerrigan, B. K. y Vlach, I. (1996). The effect of pelleting of alfalfa hay on methane production and digestibility by steers. *Science of the total environment*, 180(3), 221-227.
- INEGI. (Versión 2017). Información por entidad; Yucatán, clima Recuperado de <http://www.cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/yuc/territorio/clima.aspx?tema=me&e=31>
- Iruegas, L. F. (2016). Ganadería en el 2030. FIRA. Recuperado de [http://www.ganaderia.com/ganaderia/home/articulos-interior.asp?cve\\_art=10122](http://www.ganaderia.com/ganaderia/home/articulos-interior.asp?cve_art=10122)

- Jiménez, F. G., Velasco, P. R., Uribe, G. M. y Soto, P. L. (2008). Ganadería y conocimiento local de árboles y arbustos forrajeros de la selva lacandona, Chiapas, México. *Zootecnia tropical*, 26(3), 333-337.
- Johnson, K. A. y Johnson, D. E. (1995). Methane emissions from cattle. *Journal of animal science*, 73(8), 2483-2492.
- Judkins, M. B., Wallace, J., Galyean, M. L., Krysl, L. J. y Parker, E. E. (1987). Passage rates, rumen fermentation, and weight change in protein supplemented grazing cattle. *Journal of range management*, 40(2), 100-105.
- Knaus, W., Luger, K., Zollitsch, W., Gufler, H., Gruber, L., Murauer, C. y Lettner, F. (1999). Effects of grass clover-pellets and whole plant maize-pellets on the feed intake and performance of dairy cows. *Animal feed science and technology*, 81(3), 265-277.
- Kreuzer, M. y Kirchgessner, M. (1987). The nutritive defaunation of the rumen in ruminants. *Archiv fur tierernahrung*, 37(6), 489-503.
- Kubra, T. H. (2010). *Chemical composition and antioxidant properties of maya Nut (Brosimum alicastrum)*. Master's thesis, Clemson University. U.S.A
- Larqué-Saavedra, A. (2014). *Brosimum alicastrum*. Ramón. El sector forestal en apoyo a la cruzada contra el hambre. *Gaceta*, 6(49), 6-35
- Larqué-Saavedra, A. (2017, 17 Mayo). El árbol de Ramón por su alta productividad clave para la nueva revolución verde. *La crónica de hoy*. Tomado de [www.cronica.com.mx](http://www.cronica.com.mx)

- Lozano, O., Shimada, A. S. y Ávila, E. (1978). Valor alimenticio de la semilla del Ramón (*Brosimum alicastrum*) para el pollo y el cerdo. *Técnica pecuaria mexicana*, 34, 100-104.
- Martínez, R., Sarmiento, L., Ramírez, L. y Santos, R. (2005). Comportamiento productivo de conejos alimentados con follajes de ramón (*Brosimum alicastrum* Sw.) y tulipán (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) en Memorias VIII Encuentro de nutrición y producción de animales monogástricos Guanare, Venezuela.
- Martínez, Y. R., Santos, R. R., Ramírez, A. L. y Sarmiento, F. L. (2010). Utilización de ramón (*Brosimum alicastrum* Sw.) y Cayena (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) en la alimentación de conejos. *Zootecnia tropical*. 28(2), 153-161.
- Maya, H. S. (2016). Procesos de producción de alimentos balanceados. Práctica profesional para título de zootecnia. Facultad ciencias administrativas agropecuarias. Caldas Antioquia. 21-40.
- Mckinney, L. J. y Teeter, R. G. (2004). Predicting effective caloric value of nonnutritive factors: Pellet quality and prediction of consequential formulation dead zones. *Poultry science*, 83(7), 1165- 1174.
- McMillan, M. L. (2004). *The effects of bermudagrass-clipping pellets as an alternative forage source in the diets of sheep*. Doctoral thesis. Faculty of Texas.
- Meiners, M., Sánchez, G. C. y Blois, S. (2009). El Ramón: Fruto de nuestra cultura y raíz para la conservación. CONABIO. *Biodiversitas*, (87), 7-10.

- Mendoza, C. H., Tzec, S. G. y Solorio, S. F. (2000). Efecto de las frecuencias de rebrote sobre la producción y calidad del follaje del árbol "Ramón" (*Brosimum alicastrum Swartz*). *Livestock research for rural development*, 12(40).
- Meza, V. V., Trejo, C. A., Magaña, S. H., Sandoval, C. C., Chay, C. A., Cavazos, G. A. y Martínez, S. C. (2014). Perfil metabólico de isómeros de ácido linoleico conjugado y calidad de ovocitos en ovejas de pelo. *Nova scientia*, 6(12), 287-303.
- Morales, O. E. y Herrera, T. L. (2009). Ramón (*Brosimum alicastrum Swartz*) protocolo para su colecta, beneficio y almacenaje. CONAFOR. 3-7. Recuperado de [http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/19/1301RAMON%20\(Brosimum%20alicastrum%20Swartz.\)%20Yucat%C3%A1n.pdf](http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/19/1301RAMON%20(Brosimum%20alicastrum%20Swartz.)%20Yucat%C3%A1n.pdf)
- Muñoz, F. H., Sáenz, R. J. y Rueda, S. A. (2012). Monografías de especies forestales para plantaciones comerciales en clima tropical de Michoacán. Libro técnico SAGARPA-INIFAP, (15), 28-60.
- Orantes, G. C., Caballero, R. A. y Velázquez, M. M. (2012). Aprovechamiento del árbol nativo *Brosimum alicastrum Swartz* (Moraceae) en la selva Zoque Chiapas, México. *Lacandonia*, 6(1), 73-75.
- Palma, J. M. (2005). Los árboles en la ganadería del trópico seco. *Avances en investigación agropecuaria*. 9(1), 2.
- Parsi, J., Godio, L., Miazzi, R., Maffioli, R., Echeverría, A., Provencal, P. (2001). Valoración nutritiva de los alimentos y formulación de dietas. Curso producción animal. FAV, UNRC. 2, 4 y 6.

- Paulino, J. A. (2013). Peletización y calidad del pelet. El sitio avícola.  
<http://www.elsitioavicola.com/articles/2482/peletizacion-y-calidad-del-pelet/>
- Pérez, P. E., Moo, H. V., Estrada, L. R., Ortiz, F. A., May, H. L. y Ríos, S. C., Betancur A. D. (2013). Isolation and characterization of starch obtained from *Brosimum alicastrum* swarts seeds. *Carbohydrate polymers*, (101), 920-927.
- Pérez, R. J., Zapata, B. G. y Sosa, R. E. (1995). Utilización del Ramón (*Brosimum alicastrum* Swartz) como forraje en la alimentación de ovinos en crecimiento. *Agroforesteria en las américas*, (7), 17-21.
- Pinacho, L. B., Sanjinés, G. J., Arroyo, L. J. y Magaña, S. H. (2009). Potencial de *Canavalia maritima* e *Indigofera hirsuta* como forraje para rumiantes. *Revista verde*, 4(2), 01-04.
- Plata, F. X., Ebergeny, S., Resendiz, J. L., Villarreal, O., Barcena, R., Viccon, J. A. y Mendoza, G. D. (2009). Palatabilidad y composición química de alimentos consumidos en cautiverio por el venado cola blanca de Yucatán (*Odocoileus virginianus yucatanensis*). *Archivos de medicina veterinaria*, 41(2), 123-129.
- Posada, S. L. y Noguera, R. R. (2005). Técnica *in vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Livestock research for rural development*. 17(36). from <http://www.lrrd.org/lrrd17/4/posa17036.htm>
- Prestlokken, E. (1999). Ruminant degradability and intestinal digestibility of protein and amino acids in barley and oats expander-treated at various intensities. *Animal feed science and technology*, 82(3), 157 – 175.

- Pretel, P. (2000). *Producción y calidad forrajera del Ramón (Brosimum alicastrum Swartz) con dos sistemas de poda bajo condiciones de riego*. Tesis de maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yuc. Mex.
- Ramirez, R. H., Harvatine, K. J. y Kononoff, P. J. (2016). Short communication: Forage particle size and fat intake affect rumen passage, the fatty acid profile of milk, and milk fat production in dairy cows consuming dried distillers grains with solubles. *Journal of dairy science*, 99(1), 392-398.
- Restrepo, C., Noguera, R. R. y Posada, S. L. (2016). Efecto de la sustitución energética del maíz (*Zea mays*) en dietas para rumiantes sobre la producción de metano in vitro. *Livestock research for rural development*, 28(188). <http://www.lrrd.org/lrrd28/10/rest28188.html>
- Rooney, L. W. y Pflugfelder, R. L. (1986). Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *Animal science*, 63(5), 1607-1623.
- Salinas, C. J., Álvarez, E., Montaña, M. F. y Zinn, R. A. (2013). Influence of forage NDF level, source and pelletizing on growth performance, dietary energetics, and characteristics of digestive function for feedlot cattle. *Animal feed science and technology*. 183(3-4), 106 – 115.
- Sandoval, C. C. y Belmar, C. R. (2003a). *Principios para la alimentación de rumiantes*. Ediciones de la universidad autónoma de Yucatán. UADY. 2, 28-30.
- Sandoval, C. C., Herrera, P., Capetillo, L. C. y Ayala, B. A. (2003b). *In vitro* gas production and digestibility of *Mucuna bean*. *Tropical and subtropical agroecosystems*, (1), 77 – 80.

- Sandoval, C. C., Magaña, S. H., Capetillo, L. C. y Hovell, F. D. (2002). DeB. Comparison of charcoal and polyethylene glycol (PEG) for neutralizing tannin activity with an *in vitro* gas production technique. in: Responding to the increasing global demand for animal products. 179–180.
- Sheehle, E. A. y Kruger D. 2006. Global anthropogenic methane and nitrous oxide emissions. *Energy Journal*, 27(3), 33-44.
- Shimada, M. A. (2015). *Nutrición animal*. Tercera edición. Trillas. México: 67, 77-78.
- SIAP. (2015). Servicio de información agroalimentaria y pesquera (SIAP): Infografía agroalimentaria de Yucatán 2015. México, 45.
- Soto, A. S. (1983). Digestibilidad *in vitro* del Capomo (*Brosimum alicastrum*) Mezquite (*Prosopio laevigata*) Parota (*Enterolobium cyclocarpum*). *Tesis de licenciatura*. Escuela de agricultura, universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco.
- Svihus, B., Uhlen, A. K. y Harstad, O. M. (2005). Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Animal feed science and technology*, 122(3-4), 303 – 320.
- Tapio, I., Snelling, T. J., Strozzi, F. y Wallace, R. J. (2017). The ruminal microbiome associated with methane emissions from ruminant livestock. *Journal of animal science and biotechnology*, 8(7).

- Taylor, J. C. y Aston, K. (1976). Milk production from diets of silage and dried forage two effect of ensiling ryegrass cut at two levels of digestibility and given ad libitum with supplements of dried grass pellets. *Animal production*, 23(2), 211-221.
- Theurer, C. B., Lozano, O., Alio A., Delgado, E. A., Sadik, M., Huber, J. T. y Zinn, R. A. (1999). Steam-processed corn and sorghum grain flaked at different densities alter ruminal, small intestinal, and total tract digestibility of starch by steers. *Journal of animal science*, 77(10), 2824-2831.
- Van, L. E. y Regueiro, M. (2008). Digestión en retículo-rumen. Facultad de agronomía, universidad de la república. Curso de anatomía y fisiología animal. Uruguay: 11-13.
- Vargas, B. J., Mejía, P. G., Bedoya, M. J. y Gómez, P. J. (2013). Estimación de la técnica *in vitro* de gases frente a otras técnicas de digestibilidad. *Spei domus*, 9(18), 59-70.
- Vergara, Y. S., Briceño, C., Pérez, J., Hernández, O., Rosado, L. y Larqué-Saavedra, A. (2014). Publicaciones de *Brosimum alicastrum*. CICY. 78.
- Villanueva, A. J. y Rubio, C. J. (2016a). Producción de forraje y fruto en tres poblaciones nativas de capomo *Brosimum alicastrum* en Nayarit, México. III congreso mundial de ganadería tropical. 9-13.
- Villanueva, A. J., Bonilla, C. J. y Rubio, C. J. (2016b). Composición química y digestibilidad *in vitro* del forraje de capomo *Brosimum alicastrum* en Nayarit, México. III congreso mundial de ganadería tropical. 14-18.

- Villegas, C. M., Meneses, M. M., Miranda, R. L. y Loera, C. O. (2010). Producción de gas *in vitro* y desaparición de la materia seca del cultivo sólido con hongos ligninolíticos. *Agrociencia*, (44), 917-929.
- Wallace, R. J., Chesson, A., Van, N. C. y Demeyer, D. (2007). Feed additives and other interventions for decreasing methane emissions. *Biotechnology in animal feeds and animal feeding*, 329.
- Yerena, F., Ferreiro, H. M., Elliott, R., Godoy, R. y Preston, T. R. (1977). Digestibility of Ramón (*Brosimum alicastrum*), *Leucaena leucocephala*, Buffel grass (*Cenchrus ciliaris*), sisal pulp and sisal bagasse (*Agave fourcroydes*). *Tropical animal production*, 3(1), 27-29.