



**FERMENTACIÓN *in vitro* DE COMPLEMENTOS PARA BECERROS CON NIVELES  
CRECIENTES DE VAINA DE PAROTA (*Enterolobium cyclocarpum*)**

**[*In vitro* FERMENTATION OF SUPPLEMENTS FOR CALVES WITH INCREASING  
LEVELS OF POD (*Enterolobium cyclocarpum*)]**

Ulises Carbajal-Márquez<sup>1</sup>, Paulino Sánchez-Santillán<sup>2§</sup>, Adelaido Rafael Rojas-García<sup>2</sup>, Mario Antonio  
Mendoza-Núñez<sup>2</sup>, Marco Ayala-Monter<sup>2</sup>, Daniel Hernández-Valenzuela<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Maestría en Producción de Bovinos en el Trópico, Facultad de Medicina Veterinaria No. 2, Universidad Autónoma de Guerrero, México. C.P. 41940. <sup>2</sup>Facultad de Medicina Veterinaria No. 2, Universidad Autónoma de Guerrero, México. C.P. 41940. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Av. Periférico Poniente s/n, col Villa de Guadalupe, C.P. 40040, Iguala de la Independencia, Gro. <sup>§</sup>Autor para correspondencia: (sanchezsantillanp@gmail.com).

**RESUMEN**

El objetivo de este estudio fue evaluar la producción de gas y las características fermentativas *in vitro* de complementos para becerros con niveles crecientes de parota (*Enterolobium cyclocarpum*). Los complementos se formularon con base en el NRC (2000) y se caracterizaron por la inclusión creciente de vaina de parota T0 (testigo), T25 (25 % de vaina de parota), T50 (50 % de vaina de parota), T75% (75 % de vaina de parota). El biodigestor consistió en 0.5 g de un tipo de complemento, 45 mL de medio de cultivo y 5 mL de fluido ruminal como inóculo y se incubó a 39 °C. Las variables fueron producción parcial a las 24, 48 y 72 h, así como acumulada de biogás y metano (CH<sub>4</sub>); además pH, nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), degradación de materia seca (DMS) y degradación de fibra detergente neutro (DFDN). El análisis estadístico fue un diseño completamente al azar. La producción parcial de biogás a las 24 y 48 h, producción acumulada de biogás y producción parcial a las 24, 48 y 72 h, así como la acumulada de CH<sub>4</sub> total no mostraron diferencias ( $p > 0.05$ ) entre complementos. El pH del medio de cultivo a las 72 h de incubación mostró diferencias ( $p < 0.05$ ) entre T75 con T25 y T50. La concentración de N-NH<sub>3</sub> disminuyó conforme se aumentó la concentración de vaina de parota en los complementos ( $p < 0.05$ ). El mayor % DMS fue del complemento T75, 18.2% mayor que el complemento testigo (T0). La DFDN promedió 63.04 %, sin diferencias entre complementos ( $p > 0.05$ ). Se concluye, la fermentación *in vitro* de complementos con niveles crecientes de vaina de parota (*E. cyclocarpum*) mediante la técnica de producción de gas no mostró efectos negativos en el uso de hasta 75% en la elaboración de complementos para becerros en crecimiento.

**Palabras clave:** Degradación fibra detergente neutro, degradación materia seca, leguminosas, nutrición bovina, producción de gas.

**ABSTRACT**

The objective of this study was to evaluate the *in vitro* gas production and fermentative characteristics of supplements for calves with increasing levels of parota (*Enterolobium*



*cyclocarpum*). The supplements were formulated based on the NRC (2000) and they were characterized by the growing inclusion of parota pod T0 (control), T25 (25 % pod of parota), T50 (50 % pod of parota), T75 (75 % pod of parota). The biogestor consisted of 0.5 g of a type of complement, 45 mL of culture medium and 5 mL of ruminal fluid as inoculum and incubated at 39 °C. The variables were partial production at 24, 48 and 72 h, as well as accumulated biogas and methane (CH<sub>4</sub>); also pH, ammonia nitrogen (N-NH<sub>3</sub>), dry matter degradation (DMD) and neutral detergent fiber degradation (NDFD). The statistical analysis was a completely random design. The partial production of biogas at 24 and 48 h, accumulated production of biogas and partial production at 24, 48 and 72 h, as well as the accumulated total CH<sub>4</sub> showed no differences ( $p < 0.05$ ) between complements. The pH of the culture medium at 72 h of incubation showed differences ( $p < 0.05$ ) between T75 with T25 and T50. The concentration of N-NH<sub>3</sub> decreased as the concentration of parota sheath in the supplements increased ( $p > 0.05$ ). The highest %DMD was of complement T75, 18.2 % greater than the control complement (T0). The NDFD averaged 63.04 %, without differences between complements ( $p > 0.05$ ). It is concluded that the *in vitro* fermentation of supplements with increasing levels of pod of parota (*E. cyclocarpum*) by means of the gas production technique showed no negative effects in the use of up to 75 % in the elaboration of supplements for growing calves.

**Index words:** Neutral detergent fiber degradation, dry matter degradation, legumes, bovine nutrition, gas production.

## INTRODUCCIÓN

El uso de recursos forrajeros arbóreos como suplemento es una práctica común en los sistemas de producción de rumiantes en el trópico. La finalidad es mejorar el aporte de energía y proteína, dado que los sistemas de producción dependen de la cantidad y calidad del forraje disponible (Hernández-Morales *et al.*, 2018). En el trópico seco y húmedo de México existen especies como la parota (*Enterolobium cyclocarpum*), que es considerada como un recurso alimenticio no convencional. La parte utilizable para la alimentación de los rumiantes es el fruto; que consiste en una vaina en forma de oreja, la cual contiene las semillas que están envueltas en una matriz blanda semifibrosa (Serratos-Arévalo *et al.*, 2008). Las vainas contienen un alto porcentaje de proteína 19.5 % (Hernández-Morales *et al.*, 2018) y comparado con zacates y esquilmos agrícolas constituyen una fuente de energía 2.8 Mcal de energía metabolizable (Bonilla-Cárdenas, 1999). En forma natural, la vaina cae al suelo en los meses de abril a junio y es consumida por el ganado (Piñeiro-Vázquez *et al.*, 2013). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la producción de gas y las características fermentativas *in vitro* de complementos para becerros, con niveles crecientes de vaina de parota.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2 de la Universidad Autónoma de Guerrero. Geográficamente situado a 16° 08' Latitud Norte y 98° 23' de Longitud Oeste, a una altitud de 50 msnm, predominando



un clima cálido subhúmedo con lluvias en verano, con precipitación media anual de 1,200 mm y una temperatura promedio anual de 25 °C (INEGI, 2018).

Complementos alimenticios: Se elaboraron con ingredientes de la región Costa Chica de Guerrero (Cuadro 1). Estos se ajustaron con base en la tasa de crecimiento y la etapa fisiológica de becerros según lo reportado por NRC (2000).

**Cuadro 1.** Composición porcentual y química de los complementos elaborados con dosis crecientes de parota para becerros en crecimiento.

| Ingredientes (%)        | T0   | T25  | T50  | T75  |
|-------------------------|------|------|------|------|
| Urea                    | 4    | 4    | 4    | 4    |
| Maíz                    | 7    | 7    | 7    | 7    |
| Sal mineral             | 5    | 5    | 5    | 5    |
| Vaina                   | 0    | 25   | 50   | 75   |
| Heno                    | 56.2 | 37.7 | 18.8 | 0    |
| Soya                    | 27.8 | 21.5 | 15.2 | 8.5  |
| Composición química (%) |      |      |      |      |
| MS                      | 97   | 99   | 99   | 98   |
| Ce                      | 0.67 | 1.13 | 0.34 | 5.93 |
| MO                      | 96.7 | 97.6 | 98.6 | 92.4 |
| PC                      | 28.3 | 28.3 | 28.2 | 28.2 |
| FDN                     | 61.5 | 50.7 | 41.3 | 32.7 |
| FDA                     | 31.9 | 25.2 | 20.4 | 14.7 |
| EM, Mcal kg             | 2.13 | 2.41 | 2.48 | 2.66 |
| Hemicelulosa            | 29.5 | 25.5 | 20.9 | 18.0 |

T0 = 0% de inclusión de vaina de parota, T25 = 15 % de inclusión de vaina de parota, T50 = 50 % de inclusión de vaina de parota, T75 = 75 % de inclusión de vaina de parota, MS = materia seca, Ce = cenizas, MO = materia orgánica, PC = proteína cruda, FDN = fibra detergente neutro, FDA = fibra detergente ácido, EM = energía metabolizable Mcal kg<sup>-1</sup>.

Aspectos éticos: La vaquilla Suiz-bu se manejó de acuerdo con el reglamento interno de bioética y bienestar de la Universidad Autónoma de Guerrero según las normas oficiales NOM-062-ZOO-1999.

Medio de cultivo: El medio contenía 30 mL de fluido ruminal clarificado [líquido ruminal bovino fresco centrifugado 10 minutos a 12,857 x g y esterilizado por 15 min a 121°C y 15 psi], 5 mL de solución mineral I [6 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> en 1000 mL de agua destilada], 5 mL de solución mineral II [6 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + 6 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 12 g NaCl + 2.45 g MgSO<sub>4</sub> + 1.6 g CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O en 1000 mL de agua destilada], 0.1 mL de resarzurina a 0.1%, 0.2 g de peptona de soya, 0.1 g de extracto de levadura, 2 mL de solución sulfido-cisteína [2.5 g L-cisteína en 15 mL de 2N NaOH + 2.5 g de Na<sub>2</sub>S·9H<sub>2</sub>O aforado en 100 mL de agua destilada], 5 mL de solución a 8 % de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y 52.6 mL de agua destilada. (Sánchez-Santillán *et al.*, 2016).

Solución NaOH (2N): En 1 L de agua destilada se disolvieron 80 g de NaOH. La solución se vertió en viales serológicos (60 mL) hasta llenarlos completamente para obtener los viales trampa de NaOH 2N.



**Solución salina saturada:** En 1 L de agua destilada se disolvieron 370 g de NaCl y se agregaron 5 mL anaranjado de metilo al 0.1 %. El pH se ajustó a 2. La solución se vertió en viales serológicos (120 mL) hasta llenarlos completamente para obtener los viales trampa de solución salina saturada.

**Biodigestores:** En viales serológicos de vidrio (120 mL) se agregaron 0.5 g de cada complemento y 45 mL de medio de cultivo. Los viales se mantuvieron en condiciones anaeróbicas con CO<sub>2</sub>, se sellaron herméticamente con un tapón de neopreno (20 mm Ø) y con un arillo de aluminio. Los biodigestores se esterilizaron 15 minutos a 121 °C y 15 psi, y se incubaron 24 h a 39 °C para verificar esterilidad (Herrera-Pérez *et al.*, 2018). Los biodigestores se inocularon con líquido ruminal de una vaquilla Suiz-bu alimentada con pasto mulato y se incubaron en baño maría a 39 °C por 72 h.

**Producción de biogás:** Una manguera Taygon® (2.38 mm Ø interno y 45 cm de longitud) con agujas hipodérmicas (20 G x 32mm) en los extremos se usaron para acoplar el biodigestor con un vial trampa de solución salina saturada. El vial trampa se colocó de manera inversa en una probeta modificada que sirvió para coleccionar la solución salina desplazada por los gases que se producen durante la incubación mediante una aguja hipodérmica colocada como válvula de salida. La producción de gas se midió a las 24, 48 y 72 h.

**Producción de gas metano (CH<sub>4</sub>):** La producción de CH<sub>4</sub> se midió a las 24, 48 y 72 h con el mismo procedimiento que gas total; pero, se usó el vial trampa de solución NaOH (2N). La producción de CH<sub>4</sub> se tomó como los mL desplazados de la solución NaOH (2N), ya que el CO<sub>2</sub> reacciona con el NaOH formando Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Torres-Salado *et al.*, 2019).

**Características fermentativas:** A las 72 h de incubación, del contenido de los biodigestores después del periodo de incubación se midió pH con un potenciómetro (calibración pH 7 y 4) y se tomó 1 mL de muestra para determinar nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) según la metodología de McCullough (1967). Posteriormente, el contenido del biodigestor se filtró en bolsas ANKOM® a peso constante y se secaron a 60 °C por 24 h en una estufa. La capacidad de degradación de la materia seca (DMS) se calculó con la fórmula:  $DMS (\%) = (g \text{ muestra inicial} - g \text{ muestra final} / g \text{ muestra inicial}) * 100$ . Las bolsas ANKOM® se sellaron a calor y se determinó el contenido de FDN (Van Soest *et al.*, 1991). El porcentaje de degradación de la FDN (% DFDN) se calculó con la fórmula  $DFDN (\%) = (FDN \text{ inicial} - FDN \text{ no degradado} / FDN \text{ inicial}) * 100$  (Hernández-Morales *et al.*, 2018).

Los resultados de las variables (5 repeticiones independientes por complemento) se analizaron en un diseño completamente al azar. Los datos se analizaron usando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS® (2011) y las diferencias de medias se analizaron usando la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La producción de biogás parcial a las 24 y 48 h, así como el acumulado no presentaron diferencias estadísticas ( $p > 0.05$ ) al incrementar el contenido de vaina de parota en los complementos. Sin



embargo, en la producción parcial a las 72 h, el complemento testigo (T0) mostró mayor producción con respecto a los complementos que incluyen vaina de parota (T25, T50 y T75;  $p < 0.05$ ) (Cuadro 2). Lo anterior, como consecuencia del proceso de fermentación de los carbohidratos, ya que en las primeras 24 h se fermentan los carbohidratos correspondientes al contenido celular y azúcares solubles seguido por la fermentación de polisacáridos de la pared celular o de reserva accesibles para los microorganismos y por último los carbohidratos estructurales unidos o cerca de la lignina (Sánchez-Santillán *et al.*, 2015; Herrera-Pérez *et al.*, 2018). Lo que explica que no se hayan encontrado diferencias, ya que la vaina de parota contiene carbohidratos estructurales poco lignificados altamente digeribles (Ceconello *et al.*, 2003). Los resultados de este estudio difieren de los presentados por Hernández-Escobar *et al.* (2017) quienes encontraron producciones acumuladas biogás a las 72 h de 490 mL g<sup>-1</sup> MS, cuando incluyeron 15 % vaina de parota en dietas integrales para bovinos.

La producción parcial de CH<sub>4</sub> a las 24, 48 y 72 h, así como el acumulado no mostraron diferencias entre complementos ( $p > 0.05$ ). Las características bromatológicas de un producto sometido a fermentación ruminal es uno de los principales factores que influyen en la producción de CH<sub>4</sub> y la fermentación de carbohidratos estructurales por bacterias celulolíticas también genera mayor producción de CH<sub>4</sub>, (Torres-Salado *et al.*, 2019). Sin embargo, el promedio de FDN estimado para cada complemento en este estudio fue 46.55 % (Cuadro 1) sumado al contenido de carbohidratos solubles de la vaina de parota son factores que influyeron en los niveles de producción CH<sub>4</sub>. Lo anterior indica, la inclusión de vaina de parota no modifica la producción *in vitro* de CH<sub>4</sub> (Cuadro 2). Sin embargo, Hernández-Escobar *et al.* (2017) reportaron valores inferiores al presente estudio con 13.89 mL g<sup>-1</sup> MS de CH<sub>4</sub> en dietas con 15 % de vaina de parota.

El pH del medio de cultivo a las 72 h de incubación mostró diferencias ( $p < 0.05$ ) entre T75 con T25 y T50 (Cuadro 2). Sin embargo, estos valores se mantienen dentro del rango del pH del rumen 5.5 a 7 según Araujo y Vergara (2007); por lo que la constitución de los complementos no altera el pH ruminal. El volumen de producción de N-NH<sub>3</sub>, disminuyó a medida que se aumentó la concentración de vaina de parota en los complementos (T25, T50 y T75;  $p < 0.05$ ). Según González *et al.* (2010) la concentración ideal de N-NH<sub>3</sub> en rumen varía entre 5 a 25 mg dL<sup>-1</sup> de líquido ruminal y que la eficiencia microbiana máxima ocurre cuando la concentración de N-NH<sub>3</sub> ruminal se encuentra entre 5 y 8 mg dL<sup>-1</sup>, por lo que los valores del presente estudio se encuentran en ambos rangos de N-NH<sub>3</sub> reportados.

La degradación de la materia seca (DMS) aumento ( $p < 0.05$ ) conforme se incrementó la inclusión de vaina de parota a los complementos (Cuadro 2), siendo el complemento T75 el de mayor DMS, 18.2 % mayor que el complemento testigo (T0). Esto se puede atribuir a que la vaina de parota contiene 28 % de FDN y 20 % de FDA, propiciando que el contenido de nutrientes degradables aumente durante el tiempo de fermentación en el biodigestor; ya que DMS superiores a 60 % de alimentos para rumiantes se relacionan con bajas concentraciones de fibras detergentes (Hernández-Morales *et al.*, 2018). Los resultados del presente estudio concuerdan con otros autores quienes clasifican a las vainas de leguminosas como alimentos de buena calidad para rumiantes (Velázquez *et al.*, 2011; Delgado *et al.*, 2014).



La degradación de la fibra detergente neutro (DFDN) no mostró diferencias entre complementos ( $p > 0.05$ ). Esto no concuerda con los resultados de DMS del presente estudio. Una razón pueden ser los componentes vegetales involucrados en la autoprotección que limitan su valor nutricional, como las saponinas (Roa y Muñoz, 2012); ya que estas pueden causar una reducción significativa en la degradación del sustrato (Wina *et al.*, 2005; Carmona, 2007) por una disminución en la actividad enzimática. Esto porque T0 contiene 61.5 % de FDN, mientras T75 32.7 % (Cuadro 1), lo que representa la degradación de 384 g Kg<sup>-1</sup> de FDN para T0 y de 204 g Kg<sup>-1</sup> de FDN para T75, indicando que la FDN es más degradable en T0 que en T75.

**Cuadro 2.** Producción de biogás, metano y características fermentativas *in vitro* de complementos para becerros, con niveles crecientes de vaina de parota (*Enterolobium cyclocarpum*).

| Variables                                      | T0                 | T25                | T50                 | T75                | EEM  |
|--|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|------|
| Biogás <sub>24</sub> * (mL g <sup>-1</sup> MS) | 131.46             | 137.55             | 156.88              | 155.41             | 4.92 |
| Biogás <sub>48</sub> * (mL g <sup>-1</sup> MS) | 39.44              | 27.51              | 31.86               | 35.46              | 2.25 |
| Biogás <sub>72</sub> * (mL g <sup>-1</sup> MS) | 14.34 <sup>a</sup> | 10.96 <sup>b</sup> | 9.96 <sup>b</sup>   | 9.37 <sup>b</sup>  | 0.52 |
| Biogás acumulado (mL g <sup>-1</sup> MS)       | 184.86             | 175.61             | 198.51              | 198.44             | 4.58 |
| Metano <sub>24</sub> * (mL g <sup>-1</sup> MS) | 38.24              | 46.62              | 46.63               | 47.92              | 1.52 |
| Metano <sub>48</sub> * (mL g <sup>-1</sup> MS) | 8.76               | 8.96               | 8.77                | 10.16              | 0.26 |
| Metano <sub>72</sub> * (mL g <sup>-1</sup> MS) | 5.77               | 5.38               | 5.38                | 5.43               | 0.16 |
| Metano acumulado (mL g <sup>-1</sup> MS)       | 52.77              | 60.96              | 60.78               | 63.52              | 1.66 |
| pH   | 6.60 <sup>ab</sup> | 6.65 <sup>a</sup>  | 6.64 <sup>a</sup>   | 6.55 <sup>b</sup>  | 0.01 |
| N-NH <sub>3</sub> (mg dL <sup>-1</sup> )       | 20.83 <sup>b</sup> | 22.76 <sup>a</sup> | 21.48 <sup>ab</sup> | 16.96 <sup>c</sup> | 0.52 |
| DMS (%)  | 69.74 <sup>d</sup> | 74.70 <sup>c</sup> | 78.76 <sup>b</sup>  | 82.42 <sup>a</sup> | 1.24 |
| DFDN (%)                                       | 62.46              | 63.34              | 63.86               | 62.52              | 0.39 |

<sup>a,b,c,d</sup> Medias por fila con diferente letra indican diferencias ( $p < 0.05$ ). \*Producciones parciales a las 24, 48 y 72 h, N-NH<sub>3</sub> = nitrógeno amoniacal, DMS = degradación de materia seca, DFDN = degradación de fibra detergente neutro, EEM = error estándar de la media.

## CONCLUSIONES

La fermentación *in vitro* de complementos con niveles crecientes de vaina de parota (*Enterolobium cyclocarpum*) mediante la técnica de producción de gas mostró que no hay efectos negativos en el uso de hasta 75% en la elaboración de complementos. A nivel laboratorio, el uso de la vaina de parota como parte de las estrategias de alimentación de rumiantes es factible; sin embargo, es necesario hacer estudios *in vivo* para evaluar la respuesta productiva de los becerros a la inclusión de la vaina de parota en la elaboración de los complementos.

## LITERATURA CITADA

- Araujo, F. O. y L. J. Vergara. 2007. Propiedades físicas y químicas del rumiante. Archivo Latinoamericano Producción Animal 15(1): 133-140.
- Bonilla-Cárdenas, J. A. 1999. Uso de vaina de parota en dietas para finalización de ovinos. 500 Tecnologías Llave en Mano. INIFAP-SAGAR. p. 20.



- Carmona, A. J. C. 2007. Efecto de la utilización de arbóreas y arbustivas forrajeras sobre la dinámica digestiva de bovinos. *Revista Lasallista de investigación* 4 (1): 40-50.
- Cecconello, C. G., S. M. Benezra y E. N. Obispo. 2003. Composición química y degradabilidad ruminal de los frutos de algunas especies forrajeras leñosas de un bosque seco tropical. *Zootecnia Tropical* 21(2): 1-8.
- Delgado, D. C., R. Hera, J. Cairo y Y. Orta. 2014. *Samanea saman*, árbol multipropósito con potencialidades como alimento alternativo para animales de interés productivo. *Revista Cubana de Ciencias Agrícolas* 48(3): 205-212.
- González, G. H., R. R. Martínez, A. E. Orozco, H. N. Perea, B. M. López, C. L. Holguín. Y H. E. C. Hernández. 2010. Efecto del tipo de dieta y del grupo racial sobre el comportamiento digestivo en borregos: efecto del nivel de consumo y de la relación forraje, concentrado sobre el comportamiento digestivo en borregos. *Colección Reportes Técnicos de Investigación* ISBN. 2: 41.
- Hernández-Escobar, M. R., R. Pinto-Ruiz, A. Ley de Coss, D. Raj-Aryal, D. Hernández-Sánchez, J. A. Jimenez y H. Gomez-Castro. 2017. Producción de gas de efecto invernadero de dietas para bovinos con especies arbóreas con altos contenidos de metabolitos secundarios. *In: XLIV reunion científica AMPA clima y ganaderia productividad sustentable*: 447-451.
- Hernández-Morales, J., P. Sánchez-Santillán, N. Torres-Salado, J. Herrera-Pérez, R. A. Rojas-García., I. Reyes-Vázquez y M. A. Mendoza-Núñez. 2018. Composición química y degradaciones *in vitro* de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México. *Revista Mexicana Conciencias Pecuarias* 9(01): 105-120.
- Herrera-Pérez, J., L. Velez-Regino, P. Sánchez-Santillán, N. Torres-Salado, R. A. Rojas-García y M. Maldonado-Peralta. 2018. Fermentación *in vitro* de consorcios bacterianos celulolíticos ruminales de búfalos de agua en sustratos fibrosos. *Rev. MVZ Córdoba* 23(3): 6860-6870.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI). 2018. Anuario estadístico y geográfico de los Estados Unidos Mexicanos. (Acceso el 20 de junio de 2018). URL disponible en: [www.beta.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/?ag=12023](http://www.beta.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/?ag=12023).
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clinica Chimica Acta* 17: 297-304.
- NOM-062-ZOO-1999. Norma Oficial Mexicana, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. SENASICA, México. 22 de agosto de 2001. URL disponible en: <https://www.gob.mx/senasica/documentos/nom-062-zoo-1999>.
- NRC. 2000. Nutrient Requirements of Small Ruminants. Animal Nutrition Series. The National Academies Press. Washington, D.C. 362 p.
- Piñeiro-Vázquez, A. T., A. J. Ayala-Burgos, A. J. Chay-Canul and J. C. Ku-Vera. 2013. Dry matter intake and digestibility of rations replacing concentrates with graded levels of *Enterolobium cyclocarpum* in Pelibuey lambs. *Tropical Animal Health Production* 45: 577-583.
- Roa, V. M., y M. J. Muñoz. 2012. Evaluación de la degradabilidad *in situ* en bovinos suplementados con cuatro especies de árboles. *Revista MVZ Córdoba* 17(1): 2900-2907.
- Sánchez-Santillán, P., M. A. Cobos-Peralta, D. Hernández-Sánchez, A. I. Alvarado, V. D. Espinosa y J. G. Herrera-Haro. 2016. Uso de carbón activado para conservar bacterias celulolíticas liofilizadas. *Agrociencia* 50(5): 575-582.



- Sánchez-Santillán, P., M. Meneses-Mayo, L. A. Miranda-Romero, E. Santellano-Estrada y B. Alarcón-Zúñiga. 2015. Actividad fibrolítica y producción de gas por *Pleurotus ostreatus*-IE8 y *Fomes fomentarius*-EUM1 en bagazo de caña. *MVZ Córdoba* 20(supl): 4907-4916.
- SAS. 2011. SAS/STAT Software. Versión 9.3. Cary, NC SAS, USA: Institute INC.
- Serratos-Arévalo, J. C., J. Carreón-Amaya, H. Castañeda-Vázquez, P. Garzón-De la Mora y J. García-Estrada. 2008. Composición químico-nutricional y de factores antinutricionales en semillas de parota (*Enterolobium cyclocarpum*) *Interciencia* 33 (11): 850-854.
- Torres-Salado, N., P. Sánchez-Santillán, R. A. Rojas-García, I. Almaraz-Buendía, J. Herrera-Pérez, I. Reyes-Vázquez y F. J. Mayren-Mendoza. 2019. Producción de gas *in vitro* y características fermentativas de consorcios bacterianos celulolíticos ruminales de búfala de agua (*bubalus bubalis*) y vaca suiz-bu. *Agrociencias* 53(2): 145-159.
- Van Soest, P. J., B. J. Robertson and A. B. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74(10): 3583-3597.
- Velázquez, A. J., R. M. González, J. Bórquez, I. A. Domínguez y R. Perezgrovas. 2011. Composición química y producción de gas *in vitro* de dietas con vainas de *Acacia farnesiana*. *Arch. Zootec.* 60 (231): 637-645.
- Wina, E., S. Muetzel and K. Becker. 2005. The impact of saponins or saponin-containing plant material on ruminant production-A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 8093-8105.