



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

**EVALUACIÓN Y DESARROLLO DE BLOQUES MINERALES Y
MULTINUTRICIONALES PARA OVINOS**

TESIS

PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

PRESENTA:

M. en C.A. NALLELY SÁNCHEZ LÓPEZ

COMITÉ TUTORAL

Director:

Ph.D. Germán David Mendoza Martínez

Co-Director:

Dr. José Antonio Martínez García

Asesora:

Dr. Pedro Abel Hernández García

Ciudad de México, Diciembre de 2018



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

**EVALUACIÓN Y DESARROLLO DE BLOQUES MINERALES Y
MULTINUTRICIONALES PARA OVINOS**

La presente tesis fue realizada bajo la supervisión del comité tutorial indicado a continuación y aprobada como requisito en el plan de estudios para obtener el grado de: **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

COMITÉ TUTORAL

Director: Ph.D. Germán David Mendoza Martínez

Co-Director: Dr. José Antonio Martínez García

Asesor: Dr. Pedro Abel Hernández García

Ciudad de México, Diciembre de 2018

El Doctorado en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Programa Nacional de Programas de Calidad del CONACYT.

Publicaciones generadas de esta tesis:

Publicado:

Sánchez, N., Mendoza, G. D., Martínez, J. A., Hernández, P. A., Camacho Diaz, L. M., Lee-Rangel, H. A., Vazquez, A., Flores Ramirez, R. (2018). *Effect of Caesalpinia coriaria Fruits and Soybean Oil on Finishing Lamb Performance and Meat Characteristics*. BioMed Research International, 2018.

Enviados:

Nallely Sánchez López, Germán Mendoza Martínez, José Antonio Martínez García, Luis Alberto Miranda Romero, Pedro Abel Hernández García, Oscar A. Villarreal Espino Barros. *Evaluación de bloques multinutricionales y minerales con dieta basada en rastrojo de maíz (*Zea maíz*) para corderos en crecimiento*. Artículo enviado.

Nallely Sánchez, Germán David Mendoza, José Antonio Martínez García, Pedro Abel Hernández García, Oscar A. Villareal-Espino Barros. *Nivel nutricional y uso de fuentes herbales en bloques sobre CH₄ y CO₂ en corderos*. Artículo enviado.

Nallely Sánchez L, Germán Mendoza M, José Martínez G, Pedro Hernández G, Luis Miranda R, Oscar Villarreal EB. *Efecto de bloques con propionato de calcio sobre respuestas productivas en corderos y GEI in vitro*. Artículo enviado.

Dedicatoria

A mis hijos *Laila* y *Liang* por ser mi razón de vivir, por sus risas y paz que siempre me dan, gracias por las alocadas aventuras que vivimos y por haber sido parte de esto. Siento mucho el tiempo que les robé al haber emprendido este proyecto, sé que jamás lo recuperaré, pero vendrán tiempos mejores mis pequeños.

A mi *papá*, mi mejor amigo, por enseñarme que jamás debo darme por vencida, luchar hasta el final, siempre con pasión y esfuerzo... *te sigo extrañando*.

A *Lui*, gracias por haber sido la mamá de mis niños y habernos cuidado siempre.

A ti *mami*, por tus consejos y por el consuelo que siempre me das.

A mis queridos hermanos *Rome*, *Juli*, *Lety*, *Esme* por ser siempre mi gran ejemplo de vida.

A mis *sobrinos* que amo tanto.

A *Dios*.

Nallely Sánchez

“Con pasión todo, sin pasión nada”

Agradecimientos

Al *Dr. Germán D. Mendoza Martínez*, mi guía, maestro y amigo, gracias por siempre confiar en mí, por compartir sin escatimar nada como lo hacen sólo los grandes, gracias por sus enseñanzas y retarme profesionalmente hasta llevarme al límite con la finalidad de enseñarme algo nuevo. Aprender a su lado ha sido y seguirá siendo un gran privilegio.

Agradezco también al *Dr. José Antonio Martínez* por sus consejos que fueron de gran ayuda, por haberme tenido paciencia en todo este tiempo.

Al *Dr. Pedro Abel Hernández* por todo el apoyo brindado para la realización de este trabajo y a todos mis *compañeros* de la Universidad Autónoma del Estado de México, Centro Universitario Amecameca por estar siempre dispuestos a apoyarme.

Gracias al *Dr. Luis Alberto Miranda Romero*, por el apoyo brindado para la realización de este trabajo en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Autónoma de Chapingo.

Al *Dr. Héctor Lee Rangel* por su aportación y disposición.

A *Andrés Lee* por su apoyo y enseñanzas que siempre valoraré.

A mis amigas y amigos del Laboratorio de Ensayos Metabólicos de la Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco, gracias por todo el cariño que me han brindado y por el trabajo en equipo que nos dio tantas satisfacciones.

RESUMEN

Se realizaron experimentos *in vivo* con corderos e *in vitro* para evaluar ingredientes y bloques para ovinos diseñadas para complementar nutrientes en dietas de baja calidad, para mejorar el comportamiento productivo y reducir las emisiones de CH₄ y CO₂. En el primer experimento se evaluó la inclusión de *Caesalpinia coriaria* (alta en taninos) y aceite de soya (0 y 2%) para considerar su posible inclusión en bloques, pero no se observaron efectos en consumo, ganancias diarias de peso (GDP) y conversión alimenticia (CA). En el segundo experimento se comparó la respuesta productiva al ofrecer bloques comerciales (mineral o proteico) con uno multinutricional elaborado y un grupo testigo sin suplemento. El consumo de materia seca (MS), eficiencia alimenticia fueron similares entre tratamientos pero todos los bloques aumentaron las GDP y mejoraron la digestibilidad. Las evaluaciones *in vitro* mostraron que el bloque multinutricional aumentó la porción de propionato pero la mayor producción de gas fue registrada con el bloque proteico; las incubaciones *in situ* mostraron que la digestibilidad de MS mejoró con los bloques proteico y multinutricional. En el tercer experimento se evaluó la inclusión de propionato de calcio en el bloque. Los resultados *in vitro* indicaron que los bloques pueden reducir el metano pero no se detectaron beneficios del propionato de calcio en los corderos o en la fermentación ruminal. En el cuarto experimento se evaluó un bloque formulado con aditivos herbales (colina, lisina y metionina % bloque: (0:0:0), (3:0:0), (3:0.75:0.25)) suplementado en dos niveles de nutrición (mantenimiento y crecimiento) con grupo testigo sin suplemento. Los corderos mostraron un bajo rendimiento con la dieta de mantenimiento y el grupo testigo mostró perdidas de peso. Los corderos con la dieta de mantenimiento tuvieron mejor respuesta a los bloques que contenían más fuentes herbales (3:0.75:0.25). Se estimó que se pueden reducir las emisiones de CH₄ y CO₂ al reducir los días de emisión. Los bloques multinutricionales son una alternativa para suplementar corderos en raciones de baja calidad.

ABSTRACT

In vivo with lambs and *in vitro* experiments were carried out to evaluate ingredients and blocks for sheep designed to supplement nutrients in low quality diets to improve productive performance and reduce CH₄ and CO₂ emissions. In the first experiment the inclusion of *Caesalpinia coriaria* (high in tannins) and soybean oil (0 and 2%) was evaluated to consider its possible inclusion in blocks, but no effects were observed in average daily gains (ADG), intake and feed conversion. In the second experiment, the productive response was compared by offering commercial blocks (mineral or protein) with an elaborated multinutritional and unsupplemented a control group. The dry matter (DM) intake ad feed efficiency were similar between treatments but all blocks increased ADG and improved digestibility. The *in vitro* evaluations showed that the multinutrient block increased the proportion of propionate but the highest gas production was registered with the protein block; *in situ* incubations showed that DM digestibility improved with the protein and multinutritional blocks. In the third experiment the inclusion of calcium propionate in the block was evaluated. The *in vitro* results indicated that blocks can reduce methane but no benefits of calcium propionate were detected in lambs or in ruminal fermentation. In the fourth experiment, a block formulated with feed plant additives (choline, lysine and methionine% block: (0: 0: 0), (3: 0: 0), (3: 0.75: 0.25)) were evaluated which were supplemented in two levels of nutrition (maintenance and growth) with unsupplemented control group. The lambs showed low performance with the maintenance diet and the control group showed weight loss. The lambs with the maintenance diet had a better response particularly to the blocks containing more herbal sources (3: 0.75: 0.25). It was estimated that emissions of CH₄ and CO₂ can be reduced by reducing the days of emission. Multi-nutritional blocks are an alternative to supplement lambs in low quality rations.

ÍNDICE

1.	Introducción	1
2.	Antecedentes	2
2.1	Formulación de bloques minerales y multinutricionales	4
2.2	Ingredientes utilizados para elaboración de bloques	4
2.2.1	Urea y melaza en bloques	4
2.2.2	Minerales	5
2.2.3	Anión y catión	6
2.2.4	Levaduras	7
2.2.5	Levadura con cromo	7
2.2.6	Levadura con selenio	8
2.2.7	Levadura con zinc	9
2.2.8	Aditivos herbales	10
2.2.9	Metionina y lisina herbal	10
2.2.10	Colina herbal	11
2.2.11	Aceite de pescado	12
2.2.12	Cebolla deshidratada	13
2.2.13	Propionato de calcio	13
2.2.14	Taninos y saponinas	13
2.2.15	Aglomerantes	14
2.3	Gases efecto invernadero	15

3.	Planteamiento del problema	17
3.1	Objetivo general	17
3.1.2	Objetivos específicos	17
3.2	Hipótesis	18
4.	Capítulo I: Evaluación de <i>Caesalpinia coriaria</i> y aceite de soya en la productividad y características de carne de borregos de finalización	19
5.	Capítulo II: Evaluación de bloques multinutricionales y minerales con dieta rastrojo de maíz para corderos en crecimiento	33
6.	Capítulo III: Efecto del propionato de calcio en bloques sobre respuesta productiva, CH ₄ y CO ₂ en corderos	48
7.	Capítulo IV: Nivel nutricional y uso de fuentes herbales en bloques sobre CH ₄ y CO ₂ en corderos	65
8.	Conclusiones generales	85
9.	Referencias	86

Índice de cuadros

1. Dietas experimentales y composición química 26
2. Contenido de taninos en *Caesalpinia coriacea* 27
3. Principales efectos de *Caesalpinia coriaria* y aceite de soya sobre el rendimiento productivo y digestibilidad 27
4. Ingredientes del bloque multinutricional (% inclusión) 40
5. Contenido nutricional de los bloques 41
6. Composición química de la dieta basal y bloques (base MS) 42
7. Respuesta productiva de corderos y variables fermentativas con diferentes bloques con dietas en base a rastrojo de maíz 43
8. Composición de la dieta experimental basal (materia seca) concentrado de forraje 70:30 55
9. Formulación de bloques experimentales 56
10. Composición química de la dieta basal y bloques experimentales multinutricionales 57
11. Rendimiento productivo y emisión de metano y dióxido de carbono de corderos suplementados con bloques con o sin propionato de calcio 58
12. Parámetro de producción de gas *in vitro* y dieta basal de incubación de metano y dióxido de carbono más bloques con o sin propionato de calcio 58
13. Formulación de bloques experimentales (Biocolina: lisina: metionina) 74
14. Composición química de los bloques, periodo de mantenimiento y crecimiento 75

- 15.** Respuesta productiva en periodos mantenimiento y crecimiento, estimación de CH₄ y CO₂ 76
- 16.** Respuesta de cinética de gas (0:0:0, 3:0:0, 3:0.75:0.25) 77
- 17.** Estimación de gases efecto invernadero utilizando distintos bloques multinutricionales 78

1. INTRODUCCIÓN

La suplementación es una herramienta poco utilizada en las unidades de producción familiar o de traspatio y esto puede ser debido al costo que representa y en ocasiones la limitada respuesta productiva al incorporarlos, la cual puede estar relacionada a una falla en el diagnóstico nutricional del rebaño limitando la respuesta esperada. Esta falla puede deberse a la multivariedad de dietas que los productores ofrecen a sus animales aún dentro de la misma región (Domínguez-Vara et al. 2008), que en la mayoría de los casos en producciones con baja o nula tecnificación la calidad del alimento es baja y estos nutrientes provenientes de la dieta basal no se toman en cuenta al momento de formular los suplementos, resultando en bajas respuestas productivas y económicas (Galeta et al. 2013).

La formulación adecuada de nutrientes es importante para obtener una respuesta adecuada y el uso de aditivos es una herramienta para obtener mejores comportamientos productivos pudiendo impactar sobre la microbiota ruminal, incrementando la digestibilidad de los alimentos y reduciendo las emisiones de gases efecto invernadero (GEI), principalmente metano y CO₂. Se han utilizado distintos aditivos para manipular la microbiota ruminal como ionóforos, taninos, precursores gluconeogénicos fuentes herbales (De y Singh, 2003; Carmona et al. 2005; Ferraro et al. 2009; Wanapat et al. 2013).

Sin embargo, la tendencia hacia lo natural ha ido en aumento en los últimos años a nivel mundial, mientras que el uso de antibióticos ha ido en decremento, aumentando opciones naturales para la suplementación ovina (Rodríguez-Guerrero et al. 2018) repercutiendo en la disminución de gases efecto invernadero (Wanapat et al. 2013) por lo que es necesario evaluar plantas con propiedades nutraceuticas y mezclas poliherbales en los suplementos.

El uso de bloques multinutricionales como una herramienta de suplementación animal se ha dado a nivel mundial desde hace algunas décadas; sin embargo, no han dado los resultados esperados debido a que han sido elaborados con una sola formulación sin tomar en cuenta las necesidades en cada

unidad de producción; sin embargo si se considera una adecuada formulación que se adapte a los requerimientos nutricionales y tomando en cuenta la ración basal que también aporta nutrientes se pueden alcanzar mejores resultados productivos y además incidir en la fermentación ruminal hacia menores emisiones al ambiente.

2. ANTECEDENTES

En la mayoría de los países, el ganado es alimentado con forrajes de baja calidad y esquilmos agrícolas con altos contenidos de lignina y celulosa con deficiencias importantes en proteína, energía, minerales y vitaminas (Usman et al. 2004; Wu et al. 2005). Durante la época de sequía la baja productividad de los animales se debe a la poca disponibilidad y mala calidad del alimento; los forrajes de buena calidad escasean y los ovinos generalmente son alimentados con dietas de baja calidad (Usman et al. 2004; Unal et al. 2005) además los precios de los forrajes y granos se elevan debido a la baja disponibilidad. Todo esto resulta en una inadecuada alimentación que regularmente no cubre los requerimientos nutricionales, originando una disminución en su crecimiento, pérdida de peso y potencial de producción (Unal et al. 2005).

La utilización de los esquilmos y forrajes de baja calidad pueden mejorarse si las bacterias ruminantes cubren sus requerimientos de energía, nitrógeno (Souza et al. 2010; Lizarazo et al. 2013) y minerales (Garg et al. 2008). Una de las formas de incrementar la utilización de esquilmos es por medio de la suplementación de nitrógeno y energía u otros nutrientes requeridos por el animal y los cuales pueden incluirse dentro de un bloque multinutricional (Ducker et al. 1981; Unal et al. 2005), utilizado en diferentes partes del mundo (Wu et al. 2005) para rumiantes (Kioumarsi et al. 2011; Wadhwa y Bakshi, 2014) y en la mayoría de los casos con resultados positivos sobre la producción y adecuado retorno económico (Geleta et al. 2013).

Varios experimentos muestran que el uso de bloques incrementa significativamente el consumo de alimento (Anindo et al. 1998), ganancia de peso (Muralidharan et al. 2016) logrando que el alimento se aproveche al máximo

(Usman et al. 2004; Kayastha et al. 2012) lo cual se debe a incrementos en la digestibilidad (Toppo et al. 1997, Wu et al. 2005) cuando son alimentados con forrajes de baja calidad (Unal et al. 2005; Wu et al. 2005; Kayastha et al. 2012), resultando en un aumento en la producción y generando mejores rendimientos (Salem y Nefzaoui, 2003; Kayastha et al. 2012). Además, algunas de las ventajas del uso de bloques es la facilidad en la preparación, almacenaje y transporte, consumo gradual de energía, proteína y minerales (Usman et al. 2004; Kayastha et al. 2012).

El uso de bloques multinutricionales es una alternativa tanto para producción intensiva como extensiva para mejorar rendimientos en donde la calidad del alimento es baja (Soto y Martínez, 2001; Vazquez-Mendoza et al. 2012). El alimento de baja calidad generalmente está relacionado con bajo consumo debido a su baja tasa de pasaje, que además de ocasionar un bajo rendimiento animal, también resultan en fermentaciones que involucran un incremento en las emisiones de CH₄ (Carmona et al. 2005; Cambra et al. 2008).

En las últimas décadas se ha puesto mayor interés en las emisiones de gases con efecto invernadero y su repercusión en el cambio climático (Lashof y Ahuja, 1990; IPCC, 2007), aunque la participación de los rumiantes en el ciclo del carbono es esencial para la vida en la tierra, su incremento provoca calentamiento en la superficie terrestre (Moss et al. 2000).

Actualmente el 70% de la producción de metano surge de fuentes antropogénicas y el sector agrícola contribuye con 245 millones de toneladas de metano al año del cual 33% proviene de fermentación entérica (Moss et al. 2000), esta producción puede disminuir con una adecuada manipulación en la dieta, como la cantidad y calidad del alimento ingerido (Molano y Clark, 2008), siendo la digestibilidad de la ración uno de los factores más influyentes (Bonilla-Cárdenas et al. 2012), y otras opciones son el uso de concentrados (Briceño-Poot et al. 2012), ionóforos (Osorio et al, 2017), aceites (Beauchemin et al. 2009), taninos (Goel y Makkar, 2012) principalmente, los cuales con una adecuada formulación pueden incluirse dentro de un bloque multinutricional para el cordero.

2.1 Formulación de bloques minerales y multinutricionales

La respuesta productiva al ofrecer bloques dependerá de un adecuado diagnóstico nutricional del rebaño y un adecuado balance de nutrientes considerando la ración basal y etapa productiva en la que se encuentre el animal. Aunque existen bloques comerciales, las formulaciones entre ellos varían y la respuesta no es totalmente la esperada, por tal motivo se presume que no han tenido la demanda suficiente debido a la baja respuesta.

En la formulación de un bloque multinutricional se puede considerar diferentes ingredientes como urea, melaza, vitaminas, minerales, entre los principales (FAO, 2007), además se pueden incluir otros ingredientes los cuales se han comprobado resultan benéficos para la producción ovina tales como: precursores glucogénicos como el propionato de calcio (Lee et al. 2012), levaduras enriquecidas con minerales (Domínguez et al. 2009, Xun et al. 2012), lisina, metionina y biocolina (Rodríguez-Guerrero et al. 2018) éstas últimas protegidas naturalmente de la degradación ruminal.

Dentro de la formulación, también se debe considerar el nivel de inclusión de los ingredientes el cual dependerá de la especie, el requerimiento nutricional, etapa productiva, así mismo dentro de la formulación se debe considerar el nivel de anión catión (Apper-Bossard et al. 2010).

2.2 Ingredientes utilizados para elaboración de bloques

La selección de ingredientes a utilizar para los bloques dependerá del diagnóstico nutricional previo del rebaño, considerando los insumos que se encuentren en la región para abatir costos, de acuerdo con las necesidades nutricionales que exija la etapa productiva en la que se encuentra; así como en el caso de este trabajo disminuir gases efecto invernadero:

2.2.1 Urea y melaza en bloques

El uso de estos ingredientes ha sido muy común en bloques sobre todo en zonas donde se ofrecen alimentos con poco aporte de nutrientes con el fin de

eficientar el consumo de alimento (Aye y Adeguén, 2010; Pinos-Rodríguez et al. 2011) debido al aporte de energía y nitrógeno para los microorganismos ruminantes (Azizi-Shotorkhoft et al. 2013; Lizarazo et al. 2013), además la melaza mejora la palatabilidad del bloque.

En cuanto a la inclusión de la urea se recomienda un máximo de 10% (Usman et al. 2004; Kayastha et al. 2012) en combinación con melaza de 30 a 45% (FAO, 2007). Este porcentaje de inclusión de la urea se debe a la alta toxicidad a consecuencia de la rápida hidrólisis por la acción de la ureasa microbiana en amoníaco y dióxido de carbono, la toxicidad de amoniaco está relacionada con el aumento de pH del rumen resultado de la hidrólisis permitiendo una absorción más rápida del amoniaco en sangre (Helmer y Bartley, 1971; Kertz, 2010). Tomando en cuenta el consumo y la inclusión de urea dentro de la formulación del bloque el cordero consumiría aproximadamente 0.3 g/kg PV.

2.2.2 Minerales

De acuerdo a la cantidad de concentración en el organismo de los animales se clasifican en macrominerales Ca, P, Ca, P, K, Na, Cl, S, Mg y microminerales entre los que se encuentran Fe, Zn, Cu, Mb, Se, I, Mn, F, Co (Moniello et al. 2005), la principal fuente de minerales se encuentra en forrajes, granos o subproductos de granos (De y Singh, 2003); si en una dieta existe una carencia de algún mineral esencial o exceso, los animales podrían desarrollar síntomas de deficiencias (Salinas et al. 1997) o toxicidad (Johnston et al. 2014).

La suplementación de minerales en la nutrición animal y en especial de los rumiantes debe ser debidamente formulada, debido a la cantidad de minerales proveniente de los forrajes lo cual es difícil determinarlo debido a la variabilidad del consumo y la composición de éstos (Bilal et al. 2010). En sistemas de producción donde las ovejas son manejadas bajo condiciones extensivas puede verse afectada por la disponibilidad de nutrientes y sobre todo por el contenido mineral de los recursos forrajeros presentes en el agostadero (Vazquez-Armijo et al. 2011, Domínguez-Vara et al. 2008).

Por lo tanto, no se puede definir un patrón de respuesta a la suplementación mineral, pues depende del nivel empleado y la especie de rumiante (Lao, 2002; Sherman et al. 2004) teniendo que considerar el grado de toxicidad al suplementar (Bampidis et al. 2013) así como el antagonismo que existe entre minerales; Bhanugopan et al. (2015) al suplementar un alto contenido de potasio en ovejas obtuvieron efectos adversos como hipomagnesemia e hipocalcemia. Sousa et al. (2012) en borregos al incluir altos niveles de Fe presentaron deficiencia en Cu.

Una alternativa para disminuir este efecto antagónico es el uso de minerales quelados (Bailey et al. 2001) donde el mineral se une a un quelatante orgánico por medio de un enlace covalente, estos compuestos no tienen cargas eléctricas por lo que facilita la absorción mejorando la biodisponibilidad del mineral (El Ashry et al. 2012). Formigoni et al. (2011) en su experimento con ganado lechero obtuvieron mayor nivel de inmunidad, grasa y menor mortalidad en terneras al utilizar fuentes orgánicas. Sin embargo, Rodríguez-Acosta et al. (2011) al incluir fuentes orgánicas de Se y Cr en borregos en finalización no obtuvieron respuesta en las variables productivas evaluadas.

2.2.3 Anión y catión

Se ha demostrado que diferentes grados en la relación anión-catión tienen efecto positivo sobre variables productivas en corderos en crecimiento (Sarwar et al. 2007), además su manipulación puede influir en beneficiar la salud en rumiantes (Block, 1994; Oba et al. 2011). En corderos al administrar dietas aniónicas se estimuló el transporte de calcio (Wilkens et al. 2016). Erdman et al. (2011) al manipular las dietas en rumiantes con una diferencia más alta entre anión-catión alcanzaron mejor digestibilidad, eficientando el alimento consumido, coincidiendo con Apper-Bossard et al. (2010) en su experimento con rumiantes aumentaron el consumo de materia seca al incrementar la diferencia anión-catión. La diferencia anion-cation modifica el pH del animal por lo que debe de considerarse que dependiendo del estado fisiológico puede variar la diferencia recomendada, lo cual debe tenerse presente al formular los bloques.

2.2.4 Levaduras

Las levaduras se han utilizado como fuente natural para promover el crecimiento y actividad de los microorganismos que degradan la fibra mejorando la fermentación ruminal y rendimiento en corderos (Fonty y Chaucheyras-Durand, 2006; Tripathi y Karim, 2011), pudiendo ser adicionadas en dietas de baja calidad o mixtas mejorando la digestión de la fibra (Mao et al. 2013). Tripathi y Karim (2011) al suplementar con *Saccharomyces cerevisiae* en corderos mejoraron el consumo y crecimiento en 8 y 26% respectivamente.

2.2.5 Levadura con cromo

El cromo es parte principal del factor de tolerancia a la glucosa cuya principal función es aumentar la acción de la insulina y se recomienda incluirse por su participación en el metabolismo de proteínas, lípidos y carbohidratos (NRC, 2007). Sin embargo, debido al potencial de toxicidad de los principales compuestos que tienen cromo (Rudolf y Cervinka, 2005) en nutrición animal solo se ha autorizado y constatado la seguridad de incluir el cromo con elementos quelados como la levadura inerte con cromo, Cr quelado con metionina y el picolinato de cromo (Spears, 2010). Sin embargo no se han definido los requerimientos de ovejas (Arvizu et al. 2011). El NRC (2007) de pequeños rumiantes no ha estimado un requerimiento pero reconoce que el cromo mejora de la acción de la insulina.

La mayoría de los estudios con cromo orgánico en ovinos se ha realizado en animales en crecimiento y finalización. Los reportes demuestran que la suplementación adecuada con Cr tiene efectos favorables en la canal reduciendo la deposición de grasa y aumentando la síntesis de proteína (Moreno-Camarena et al. 2015). Domínguez et al. (2009) reportan que con dosis de 0.25 o 0.35 de mg/kg en Cr en levadura enriquecida redujo la grasa y aumentó el área de ojo de la chuleta en corderos Rambouillet. Arvizu et al. (2011) suplementaron a corderos Rambouillet una dosis diaria de 0.25 mg de cromo orgánico y observaron que se redujo la grasa dorsal en un 18% en la 12^a costilla así como la grasa en la chuleta.

Kitchalong et al. (1995) con tripicolinato de cromo en dosis de 0.25 mg/kg en corderos indicaron una disminución del 18% en la grasa dorsal a nivel de la décima costilla. Rodríguez et al. (2011) reportaron que al suplementar corderos con levadura enriquecida con Cromo y Selenio (0.3 mg/kg MS para cada elemento) sin respuesta en variables productivas. Reséndiz-Hernández (2012) evaluaron con corderos los efectos de levadura inerte, selenio (0.9 mg/kg) y cromo (1.4 mg/kg) orgánicos aumentando la ganancia de peso, peso de la canal, incremento en la digestibilidad de la materia seca *in situ* de 62.66 a 67.42%. Da Rocha (2013) al incluir levadura con cromo orgánico (1 mg/kg) aumentó el consumo de materia seca.

2.2.6 Levadura con selenio

Tanto el selenio como el cromo son considerados modificadores metabólicos que tienen efectos benéficos en la utilización de la energía en el animal (Domínguez et al. 2009). El selenio forma parte funcional de proteínas llamadas seleno-proteínas y también de algunas enzimas importantes como la glutatión peroxidasa (Šustala et al. 2003). El selenio es un elemento esencial en la dieta como anti-oxidante (Akil et al. 2011), ayuda a prevenir y reparar el daño celular en el organismo, está implicado en la función inmune y también es un elemento necesario para el crecimiento y la fertilidad (Hefnawy y Tórtora-Pérez, 2010). En ovinos su deficiencia causa la enfermedad del músculo blanco en corderos, reduce la producción de lana y la fertilidad en ovejas (Suttle y Jones 1989). La vitamina E y la suplementación de selenio en forma conjunta ayudan a mantener la salud, el crecimiento y la fertilidad en el ganado ovino (Balicka-Ramisz et al. 2006).

Se ha reportado que en ciertas áreas de México, la concentración de Se es baja en suelos y pastos. Bajo estas condiciones las ovejas gestantes suplementadas oralmente con selenio, mejoraron sus tasas de parición, por una menor pérdida de embriones (McDowell 1994). En general, varios estudios demuestran que la suplementación con Se mejora la reproducción en ovejas (Vázquez-Armijo et al. 2011).

La deficiencia de selenio en bovinos causa mayor incidencia de problemas de retención de membranas fetales y mastitis clínica, problemas que se reducen con la suplementación del elemento (Silvestre et al. 2007), los resultados son mejores cuando se usa la levadura enriquecida con selenio (Krzyżewski et al. 2014). Se ha reconocido que la biodisponibilidad de selenio orgánico en levadura es mejor que el selenito de sodio y tiene un efecto positivo en la salud de la ubre (O'Rourke, 2009).

Se recomienda que para garantizar cumplir los requerimientos nutricionales de selenio, se suplemente de forma rutinaria con fuentes de levadura de selenio orgánico en 0.3 mg por kg/PV (Koenig y Beauchemin, 2009). En una evaluación con ovinos de fuentes orgánicas combinadas de selenio y cromo en levaduras, los resultados demuestran que al combinarlos en la ración se tienen efectos benéficos en algunos metabolitos sanguíneos (triglicéridos, colesterol y urea) y en insulina (Domínguez et al. 2009)

2.2.7 Levadura con zinc

El Zn se ha reconocido como cofactor de más de 300 metalo-enzimas (McCall et al. 2000) y tiene un papel importante en el sistema inmune, renovación de células y también participa en la integridad estructural de tejidos (Overton y Yasui, 2014). La deficiencia en ovinos repercute en la ganancia de peso, empeora la eficiencia de utilización del alimento, reduce el consumo de alimento y puede manifestar problemas de pica (Vázquez et al. 2011)

Al suplementar Zn a ovejas en pastoreo se mejoró la producción de corderos incrementando la prolificidad en un 14% (Minson, 1990; McDowell et al. 1997). A pesar de que no se ha evaluado en la producción de leche de ovejas, los experimentos con bovinos sugieren que la suplementación con Zn quelado (zinc metionina) puede incrementar la producción de leche y reducir el conteo de células somáticas (Kellogg et al. 2004; Cope et al. 2009; Sobhanirad et al. 2010).

2.2.8 Aditivos herbales

Ante la tendencia mundial de disminuir el consumo de antibióticos e inclinarnos hacia soluciones orgánicas que puedan impactar de manera positiva la fermentación ruminal y disminuir efectos negativos al ambiente (Anassori et al. 2012; Díaz-Galván, 2017), por estas razones se consideró dentro de la formulación de bloques la adición de aditivos herbales que contengan metionina, lisina, colina los cuales han sido utilizados en rumiantes con efectos positivos (Rodríguez-Guerrero et al. 2018).

El beneficio de utilizar fuentes herbales es que no son alterados químicamente manteniendo los compuestos naturales de la planta tales como metabolitos secundarios que incluyen alcaloides, flavonoides, saponinas, terpenoides y otros compuestos fenólicos (Akande et al. 2010; Paiva et al. 2010), los cuales pueden influir en la fermentación ruminal y en algunos casos mejorar la digestibilidad y productividad de los animales (Vasta y Luciano, 2011; Bodas et al. 2012) , además de influir sobre la producción de gases efecto invernadero (Mao et al. 2010; Goel y Makkar, 2012).

2.2.9 Metionina y lisina herbal

La metionina juega un papel central en la síntesis de lipoproteínas en el hígado, también intervienen la síntesis de carnitina, fosfolípidos y creatina (Lobley et al. 1996; Ardalan 2010), así como en la producción de otros sulfuros contenidos en aminoácidos, es precursor de carnitina y glutatión las cuales ayudan a la protección celular del estrés oxidativo (Finkelstein, 1990; Harpaz, 2005). La metionina es precursor de S-adenosil metionina utilizado para la donación de grupos metilo requerido por varios procesos metabólicos como metilación del DNA, síntesis RNA, lípidos y proteínas (Jankowski et al. 2014).

La metionina y lisina han sido reconocidos como aminoácidos limitantes para la producción de leche en ovejas y para crecimiento de corderos (NRC, 2007). En rumiantes con dietas deficientes en proteína se ha utilizado la lisina y metionina resultando mejores ganancias diarias de peso y eficiencias alimenticias

(Gami et al. 2017). Lee et al. (2012) al utilizar metionina y lisina protegidas en vacas lecheras con dieta deficiente en proteína aumentaron la eficiencia de nitrógeno en la leche y disminuyendo pérdidas de nitrógeno en orina. En los rumiantes al incluir aminoácidos protegidos mejoran el consumo de alimento, digestibilidad y rendimiento cuando son alimentados con dietas con bajo valor nutricional (Ali et al. 2009); Sánchez-Acosta et al. (2012) al ofrecer forraje de baja calidad tratado con urea y metionina protegida para ovinos mejoraron la digestibilidad de la fibra.

Por lo anterior, se consideró dentro de los ingredientes incluir la lisina y metionina en una relación 3:1 (NRC, 2007) teniendo una mejor respuesta al formularlas juntas (Zhu et al. 2018) que por separado (Swanepoel et al. 2010; Auawdeh, 2016), esta relación permite el mayor escape de aminoácidos al duodeno (Robinson, 2010).

La metionina también se encuentra estrechamente relacionada con la colina, ya que es una fuente de S-adenosilmotionina la cual interviene para la síntesis de colina (Finkelstein, 1990). Al incluirse ambas protegidas de la fermentación ruminal se ha demostrado que mejoran el rendimiento y salud en los rumiantes (Ardalan et al. 2010).

2.2.10 Colina herbal

La colina se encuentra clasificada como parte de la Vitamina B y un nutriente limitante para la producción de leche, interviene en la síntesis de neurotransmisores (acetilcolina), señalización celular, es un componente esencial en membranas celulares (fosfolípidos), transporte de lípidos (lipoproteínas) y metabolismo del grupo metilo (Zeisel y Costa, 2009; Ardalan et al. 2010, Pinotti et al. 2012).

La obtención de colina por los animales puede ser por dos vías, *de novo* y fuentes externas; sin embargo la síntesis *de novo* no es suficiente para satisfacer las necesidades del rumiante, por lo tanto la obtención de grupos metilo para su síntesis pueden derivar de metionina (S-adenosil-L-metionina) y betaina

provenientes de la dieta (Pinotti et al. 2012). Emmanuel y Kennelly (1984) estiman que aproximadamente el 28% de la metionina es utilizada para la síntesis de colina través de la vía para la biosíntesis *de novo* de la colina. Estudios han demostrado efecto positivo sobre el rendimiento en rumiantes, producción de leche, porcentaje de grasa en leche reduciendo la acumulación de lípidos hepatocelulares (Savoini et al. 2010).

La colina sirve para síntesis de fosfatidicolina y de acetilcolina e interviene en el metabolismo de energía por lo que su uso tiene efectos benéficos en animales gestantes y lactantes (Overton, 2005). Sobre todo en la época de transición cuando el gasto de energía es demandante y aumentan problemas de cetosis y síndrome de ácido graso en ganado lechero (Shahsavari et al. 2016).

Los resultados de varios experimentos indican que el contenido de metionina y colina influyen en los efectos de la administración de suplementos de colina (Baldi y Pinotti, 2006; Brüsemeister y Sudekum, 2006), por lo que para maximizar la respuesta a la colina se requiere que se tenga metionina (Davidson et al. 2008). Se han realizado estudios en rumiantes suplementando colina y metionina protegidos de la degradación ruminal con efectos positivos sobre la producción (Ardalan et al. 2010). En ovinos en crecimiento ofreciendo colina de origen vegetal mejora ganancias diarias de peso (Godínez-Cruz et al. 2015).

2.2.11 Aceite de pescado

Se han realizado estudios sobre la incorporación de aceite de pescado en dietas para corderos con resultados positivos en eficiencia alimenticia y grosor de la grasa dorsal mejorando el rendimiento con efecto cuadrático en su inclusión (Hernández-García et al. 2017). Además el uso de fuentes lipídicas pueden influir sobre la producción de metano y CO₂ (Bayat et al. 2015). En cuanto a la inclusión de aceite de pescado se recomienda 12 g/kg en las dietas en corderos en finalización (Hernández-García et al. 2017). Toral et al. (2009) y Ferreira et al. (2014) indican que al 1% de aceite de pescado se obtuvo mejor respuesta en GDP, conversión alimenticia, peso final y el consumo aumentó.

2.2.12 Cebolla deshidratada

Este ingrediente ha sido estudiado por sus propiedades que derivan de los thiosulfinatos, compuestos volátiles del azufre, con alto contenido de saponinas y flavonoides (Lanzotti, 2006), además de su efecto antihelmíntico en borregos (Mehlhorn et al. 2011). Keyvanlou et al. (2011) recomienda no incorporar más del 30% en rumiantes.

2.2.13 Propionato de calcio

El propionato de calcio puede ser incorporado en la dieta para aumentar la concentración de propionato en el rumen, que es el principal precursor necesario para la síntesis de glucosa en el hígado (Aiello et al. 1989) pero debe de usarse en dosis bajas, ya que tiene un efecto hipofágico en rumiantes (Farningham y Whyte, 1998; Oba y Allen, 2003).

En dietas de corderos en finalización la inclusión de propionato de calcio ha permitido la sustitución de 100 g/kg de grano en base seca con la misma ganancia de peso y conversión, con un aumento de propionato de rumen (Lee et al. 2012). Mendoza et al. (2015) incluyeron 0, 10 y 20 g/kg de propionato de calcio en dietas de finalización de corderos sin encontrar diferencias en el consumo ni en conversión de alimento. Berthelot et al. (2001) añadieron 56 g/kg de propionato de sodio en raciones de corderos y tampoco encontraron diferencias en el consumo y ganancia de peso.

2.2.14 Taninos y saponinas

Es frecuente el uso de plantas con metabolitos secundarios como taninos y saponinas para disminuir la producción de metano (Goel y Makkar, 2012), disminuir la producción de parásitos (Villalba et al. 2010) además de mejorar la producción cuando son utilizados en la alimentación animal de acuerdo a algunos estudios (Salem et al. 2005).

La mitigación de metano al incluirlas en la dieta es debido a que son detergentes naturales que provocan lisis celular sobre las membranas de células protozoarias (Pen et al. 2007) estos metabolitos modifican la fermentación ruminal al disminuir los protozoarios ruminales con esto también a algunas bacterias metanogénicas que se encuentran en simbiosis logrando reducir la producción de metano (Goel y Makkar, 2012; Rira et al. 2015), otra vía de mitigación de la metanogénesis en forma indirecta por la disminución del sustrato H₂ a consecuencia de la reducción a la degradación de la materia seca. (Mao et al. 2010, Goel y Makkar, 2012)

Las plantas con estos compuestos pueden mejorar el flujo de proteína microbiana, a causa de grupos hidroxilo fenólicos de los taninos los cuales forman complejos con proteínas (Goel y Makkar, 2012) evitando su solubilidad (Salem et al. 2005) y disminuyendo la concentración de nitrógeno amoniacal en el rumen (Fernández et al. 2012) e incrementando su absorción en intestino, y su efecto en la fermentación depende de la concentración que contenga la planta, y la composición en la dieta (Rira et al. 2015)

Pen et al. (2007) en su experimento con borregos al ofrecer plantas con saponinas obtuvieron cambios en la fermentación ruminal, reduciendo el N amoniacal y la concentración total de AGV sugiere que degrada menos proteína ruminal, así como la disminución de metano al reducir la cantidad de protozoarios. Yisehak et al. (2014) incluyeron una fuente herbal con taninos logrando resultados positivos en la digestibilidad y rendimiento en ovinos.

2.2.15 Aglomerantes

Para la elaboración de los bloques es importante la adición de algún aglutinante, para que realicen su función de ser consumidos gradualmente, éstos deben tener una consistencia que resista el consumo del animal sin romperse, ya que la consistencia del bloque influirá en su consumo (Kawas et al. 2010; Mendoza et al. 2017)

El cemento y óxido de calcio se ha usado en niveles de 1.5% a 1.8% en bloques para suplementar ruminantes (Galina et al. 2004, Mendoza et al. 2017), se recomienda incluirlos del 5 a 10% (FAO, 2007).

2.3 Gases efecto invernadero

En la actualidad la reducción de los gases con efecto invernadero es una demanda mundial. En lo que respecta a la producción de los rumiantes domésticos y silvestres, se sabe que estos representan una fuente de producción importante de estos gases (Johnson y Johnson, 1995) por lo que es importante establecer estrategias de manejo nutricional que reduzcan las emisiones de metano (CH_4) junto con el dióxido de carbono (CO_2).

Se estima que el sector ganadero emite el 37% del metano, proveniente principalmente de la fermentación entérica de la digestión en rumiantes y cuyo potencial de calentamiento global es 23 veces mayor que CO_2 (FAO, 2006). La producción de este gas depende fundamentalmente de la cantidad y calidad del alimento ingerido, siendo la digestibilidad de la ración uno de los factores más influyentes, así como cuando son alimentados con altos niveles de concentrados (Briceño-Poot et al. 2012). El metano (CH_4) junto con el dióxido de carbono (CO_2) en altas concentraciones provocan un calentamiento de la superficie terrestre y la destrucción de la capa de ozono de la atmósfera, teniendo una implicación en los sistemas alimenticios y en la seguridad alimentaria (Carmona et al. 2005; Bonilla-Cárdenas et al. 2012).

La manipulación de la dieta de los rumiantes se considera una alternativa viable para disminuir la producción de CH_4 y en forma paralela disminuir las pérdidas energéticas en el animal lo cual puede incrementar la producción. Los reportes en la literatura señalan que los sustratos de baja calidad que generalmente están relacionados con bajo consumo debido a su baja tasa de pasaje, no sólo tienen efecto en el bajo rendimiento del animal, sino que también involucran un incremento en las emisiones de CH_4 . (Leng et al. 1993; Carmona et al. 2005; Cambra et al. 2008).

En este estudio para estimar las emisiones de metano y CO₂ se utilizó el patrón de fermentación de acuerdo a la relación forraje concentrado usando los datos reportados por Orskov et al. (1968) y mediante las ecuaciones estequiométricas de Wolin (1960) reportadas por Van Soest (1994) se calcularon los moles de CO₂ producidos.

3. Planteamiento del problema

Existen deficiencias nutricionales en sistemas extensivos e intensivos en ovinos en México.

3.1 Objetivo general

Evaluar y desarrollar bloques minerales y multinutricionales para ovinos, que mejoren su comportamiento productivo y que permitan reducir las emisiones de metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2).

3.1.2 Objetivos específicos

- Evaluar ingredientes que potencialmente pueden reducir la emisión de gases efecto invernadero en ovinos (*Caesalpinia coriaria*, aceite de soya, propionato de calcio, mezclas herbales) para su incorporación en bloques.
- Evaluar *in vitro* los aditivos que incorporados a bloques permiten reducir la emisión de gases efecto invernadero en ovinos en sistemas de alimentación basados en forrajes.
- Evaluar y comparar bloques disponibles para ovinos en sistemas de alimentación basados en forrajes.
- Desarrollar y formular bloques para ovinos que permitan mejorar el comportamiento productivo de ovinos que reduzcan emisiones de gases efecto invernadero.
- Estimar las emisiones de gases efecto invernadero en la suplementación de bloques a la dieta de los ovinos.

3.2 Hipótesis

Los bloques disponibles en el mercado para ovinos, no complementan en forma adecuada todos los nutrientes por lo que no se obtiene el comportamiento productivo potencial.

La formulación de bloques minerales y multinutricionales basados en el diagnóstico nutricional permitirá mejorar la respuesta productiva de ovinos debido a cambios en la digestibilidad.

Es posible formular bloques minerales y multinutricionales que permitan reducir las emisiones de gases efecto invernadero en ovinos.

4. Capítulo I: Evaluación de *Caesalpinia coriaria* y aceite de soya en la productividad y características de carne de borregos de finalización

Resumen

Con el fin de evaluar la combinación de un fruto rico en taninos más aceite de soya para mejorar la productividad y características de la carne de corderos, se llevó a cabo un experimento donde 20 corderos criollos machos (23.71 ± 3.46 kg) fueron asignados al azar con un arreglo factorial 2 x 2 en uno de los siguientes tratamientos: dieta de control, 2% *Caesalpinia coriaria* (MS/kg alimento), 2% de aceite de soya (Base Seca) y 2% *Caesalpinia coriaria* más 2% aceite de soya. La concentración de taninos condensados (TC) en *Caesalpinia coriacea* fue de 21.71 g / kg MS. No se detectaron interacciones entre aceite de soya y *Caesalpinia coriacea* para ganancia diaria de peso, consumo diario de alimento y conversión alimenticia. El aceite de soya redujo ($P < 0.05$) la digestibilidad de la MS (68,05 vs 59,56%). La combinación del fruto de *Caesalpinia coriacea* y aceite de soya no mejoró la productividad de corderos o la calidad de la carne.

Palabras clave: *Caesalpinia coriaria*, aceite de soya, corderos, taninos

Abstract

In order to evaluate whether the combination of a tanniferous fruit and soybean oil could improve lamb performance and affect meat characteristics an experiment was conducted during 40 days with twenty creole male lambs (23.71 ± 3.46 kg) allotted in a completely randomised design with factorial arrangement 2 x 2 with the following dietary treatments: control diet, 2% *Caesalpinia coriaria* ground fruit dry matter (DM), 2% soybean oil DM, and 2% *Caesalpinia coriaria* fruit plus 2% soybean oil. The concentration of condensed tannins (CT) in *Caesalpinia coriacea* was 21.71 g/kg DM. No interactions were detected among soybean oil and *Caesalpinia coriaria* and there were no differences in daily gain, intake and feed conversion. Soybean oil reduced ($P < 0.05$) DM digestibility (68.05 vs. 59.56%). The combination of *Caesalpinia coriacea* fruit and soybean oil did not improve lamb performance.

Key words: *Caesalpinia coriaria*, soybean oil, lamb, tannins

Introducción

La inclusión de plantas con taninos condensados (TC) en niveles bajos o moderados en dietas para rumiantes ha demostrado efectos beneficiosos en el rendimiento del cordero debido a la reducción de la degradación de la proteína ruminal que mejora el suministro de aminoácidos al intestino delgado (19, 35). Los taninos también pueden reducir las pérdidas de metano y esto podría aumentar la EM para el crecimiento; los estudios *in vitro* demostraron que el aumento de los niveles de hojas de árboles tropicales que contienen taninos produce una reducción lineal en la concentración de metano (7). Otros beneficios de la suplementación con tanino en raciones de corderos son una mayor deposición en el músculo de Trans C18:1 and C18:2 n-6 (33).

En un experimento con corderos alimentados con niveles crecientes de arbustos de taninos y aceites vegetales (aceite de soya y aceite de linaza 2: 1), no hubo informes de interacciones o efectos sobre el crecimiento; Incluso a niveles de 80 g /kg de aceite, la ingesta estaba deprimida. Sin embargo, la suplementación con aceite aumentó los ácidos grasos poliinsaturados n-3 totales en la carne, mejorando el valor nutricional (11). La inclusión de aceite de soya en las dietas de acabado de cordero a 60 g / kg no afectó el rendimiento de los corderos (9) y se ha informado que el aceite de soya tiene un efecto inhibitorio sobre la producción de metano cuando se incluye a 30 g / kg, afectando a las bacterias metanogénicas y Protozoos del rumen en corderos (17).

Los efectos de diferentes plantas tanníferas sobre los ácidos grasos poliinsaturados en la carne indican que no todos los taninos condensados tienen el mismo efecto sobre la biohidrogenación ruminal (32); por lo tanto, se deben evaluar diferentes plantas para identificar aquellas que inducen efectos beneficiosos en el rendimiento de los corderos y la calidad de la carne. Las hojas de Caesalpinia coriaria tienen un contenido de taninos muy rico con actividad antibacteriana moderada contra las bacterias patógenas (14) y algunas especies de árboles frutales tropicales contienen taninos en concentraciones sustanciales. (22, 23); por lo tanto, se planteó la hipótesis de que la inclusión de frutas deshidratadas con taninos en dietas de rumiantes en niveles más bajos puede

mostrar los efectos beneficiosos de los taninos condensados. Por lo tanto, se diseñó un experimento para evaluar la inclusión de la fruta *Caesalpinia coriaria* con o sin aceite de soya en las raciones de corrales de engorde que podrían mejorar el rendimiento del cordero y la calidad de la carne.

Materiales y métodos

Veinte corderos criollos machos (23.71 ± 3.46 kg) fueron asignados aleatoriamente a uno de cuatro tratamientos ($n = 5$ corderos / tratamiento): 1) dieta de control, 2) 2% de *Caesalpinia coriaria* deshidratada de fruta molida DM, 3) 2% de aceite de soya DM y 4) 2% de fruta de *Caesalpinia coriaria* y 2% de aceite de soya; Los corderos se alojaron en cajas individuales y el alimento se proporcionó a las 08:00 y a las 15:00 h, se adaptó a las dietas experimentales durante 10 días y el experimento duró 40 días. Todos los corderos tenían acceso gratuito al alimento, lo que garantizaba 100 g de orts por kg de la cantidad alimentada diariamente. Los frutos de *Caesalpinia coriaria* se recolectaron en febrero de 2014 en el municipio de Pungarabato, Guerrero. La fruta de todos los árboles se mezcló y se secó a la sombra durante 15 días, y luego la fruta entera (que contenía la cáscara y la semilla) se trituró en un molino que contenía un tamaño de malla de 4 mm. Otros alimentos de la ración se molieron (pantalla de 2.0 cm) y se mezclaron en un molinillo (Vigusa, México) para ofrecer raciones experimentales como raciones mixtas totales.

Las muestras diarias de los piensos y orts se recogieron y combinaron cada 14 días. La materia seca y el nitrógeno en las dietas se analizaron de acuerdo con la AOAC (1997). Los análisis de fibra de detergente neutro (NDF) y fibra de detergente ácido (ADF) se realizaron con un sistema de detergente (Van Soest et al. 1991). Las muestras de heces se colectaron durante 4 días (28) en el día 30 del período experimental para estimar la digestión de la materia seca aparente. Los piensos y los orts se recolectaron diariamente durante el mismo período. Las muestras se utilizaron para determinar la ceniza insoluble en el ácido como marcador interno para estimar la digestibilidad de la DM y la FDN (30).

Las variables evaluadas fueron consumo diario de alimento, ganancia diaria de peso (GDP), conversión de alimento, área del músculo dorsal de *Longissimus*

dorsi y características de la carne. El área muscular de *Longissimus dorsi* se evaluó un día antes del sacrificio (día 39) mediante ecografía (25). Después del sacrificio, se recogieron muestras musculares (5 g) del lomo izquierdo (*Longissimus dorsi*) y se almacenaron en un congelador (-20°C) hasta que se analizaron. Para medir la fuerza de corte de Warner-Bratzler, se cocinaron filetes de 2,5 cm de espesor a 70 ° C, utilizando una máquina de prueba universal Instron modelo 1132 (Instron, Canton, MA) con un accesorio Warner-Bratzler (34). El color se midió 24 h después del sacrificio en cortes frescos de las muestras de lomo usando un espectrofotómetro Minolta CM-2006d (Konica Minolta Holdings, Inc., Osaka, Japón). Se registraron la luminosidad (L *), el enrojecimiento (a *) y la amarillez (b *) (21).

En la fruta deshidratada de *Caesalpinia coriaria* se analizaron los taninos condensados totales (TCT) utilizando el método de butanol-HCl (29), con Lysiloma acapulcencis como estándar interno (López et al. 2004). Los análisis de los taninos condensados libres (CT libre), unidos a proteínas (PCT) y unidos a fibras (FCT) se realizaron de acuerdo con el método de Porter et al. (1986). La purificación se realizó con Sephadex LH-20 (3, 13). Los resultados se analizaron de acuerdo con un diseño completamente aleatorizado con una disposición factorial 2 × 2 y medias comparadas con la prueba de Tukey (27).

Resultados

El contenido de taninos totales, taninos unidos como fracciones y taninos condensados en la fruta se presenta en el Cuadro 2, mostrando una alta proporción de aquellos unidos a la fibra y baja proporción de aquellos unidos a la fracción de proteína. No se detectaron interacciones entre el aceite de soya y la fruta de *Caesalpinia coriaria*; Por ello, se presentan los principales efectos. (Cuadro 3). No hubo diferencias en la mayoría de las variables de rendimiento del cordero; sin embargo, el aceite de soya redujo ($P <0.05$) la digestibilidad de MS (68.05 vs. 59.56%) y se inclinó ($P = 0.15$) para reducir la digestibilidad de FDN (84.08 vs. 81.21%). La digestibilidad de MS y FDN estaba altamente correlacionada ($r = 0.96$, $P <0.0001$). La mayoría de las características de la carne

de lomo no fueron afectadas por los tratamientos. Solo la amarillez fue mayor con *Caesalpinia coriaria* en 2% ($P <0.05$).

Discusión

La mayoría de los estudios con plantas tanníferas se han orientado a las hojas, por lo que hay pocos datos con frutas como la inclusión de *Crescentia alata* y *Guazuma ulmifolia* (22), tal vez porque la ingesta de frutas por parte de pequeños rumiantes en el campo es limitada debido para el gran tamaño y la dureza de la fruta, que también requiere la recolección de la fruta madura (23), deshidratación y moliendas para incluir en la dieta.

Incluso cuando las hojas de *Caesalpinia coriaria* se han considerado con un contenido rico en taninos (14, 2), el contenido total de taninos (CT) en el fruto es menor en comparación con la encontrada en las plantas consumidas por las cabras en los trópicos secos, cuyos valores varían de 78 g/kg a 174 g/kg DM (8). El CT en la fruta (*Caesalpinia coriaria*) es más baja que la media de las plantas tropicales con un alto contenido de taninos de 30 g/kg de MS (1), pero puede considerarse similar a *Lotus corniculatus*, una leguminosa adaptada a suelos ácidos con 23 g/kg de taninos condensados (5). Sin embargo, el CT (21.71 g/kg) es más alta que otras frutas tropicales de árbol con una concentración informada de CT de 11.9 y 12.0 g/kg, respectivamente (22). La proporción de taninos unidos a fibra o proteína en la fruta de *Caesalpinia coriaria* es relativamente baja en comparación con las plantas tropicales consumidas por las cabras (8). Se ha demostrado que los taninos condensados tienen efectos antimetanogénicos, pero la importancia biológica de las diferentes fracciones no se ha aclarado por completo. Las plantas que contienen tanto tanino hidrolizable más tanino condensado fueron más efectivas para reducir la producción total de gas y metano *in vitro* que las que solo contienen taninos hidrolizables (6).

Varios estudios coinciden en que el rendimiento del cordero no mejora con el aceite de soya o con plantas ricas en taninos condensados. Abdalla et al. (2012) encontraron que la adición de aceite de soya en 1.8% y 3% en la dieta no afectó el desempeño del cordero. Dávila-Ramírez et al. (2014) informaron resultados similares en aumento de peso corporal, consumo de alimento y eficiencia de

alimentación con 6% de aceite de soya y el control y otros con 2% (26) o 3% (17) de soya no encontraron una respuesta en el desempeño del cordero, incluso Cuando se redujo la emisión de metano en este último estudio. En un experimento, cuando los frutos de *Crescentia alata* y *Guazuma ulmifolia* se ofrecieron ad libitum, la ingesta de *Crescentia alata* fue mínima (48 g/d) en comparación con la fruta de *Guazuma ulmifolia* (686 g/d), lo que afectó gravemente la ganancia diaria en corderos (81 vs 4 g/d) (22). En otros experimentos con hojas fijas de frutos de *Crescentia alata* y *Guazuma ulmifolia* (15 y 30%), la ganancia diaria y la conversión de alimento no se vieron afectadas y solo la ingesta fue mayor con 30% de *C. alata* (23).

La concentración dietética de CT en este experimento (0.42 g/kg de MS) fue menor en comparación con otros estudios; el experimento con raciones de corderos que incluyen frutas (23) con dietas con concentraciones de 1.7 a 3.6 g/kg y la GDP fue similar a la dieta control, mientras que en otros experimentos con concentraciones más altas en ensilajes (32 y 62 g/kg de MS), la ganancia diaria se redujo con las concentraciones más altas (12). Zamiri et al. (2015) incluyeron hojas de *Glycyrrhiza glabra* en corderos con una concentración dietética de 4 g / kg de DM y encontraron una respuesta positiva solo cuando se usó PEG asociado con el efecto protector de la proteína.

En otro experimento, se evaluaron los niveles dietéticos de taninos condensados de 5, 10 y 20 g/kg de MS *Cistus ladanifer* dietético combinado con una mezcla de aceite vegetal (0, 4 y 8%); no hubo cambios en el aumento de peso por los taninos condensados, pero la ingesta reducida de aceite (11), como se observó en nuestro experimento. El aceite de soya puede afectar protozoos y metanógenos; Mao et al. (2010) encontraron que la población de protozoos se redujo a alrededor del 52% y los metanógenos al 41% en corderos alimentados con una dieta con aceite de soya. Esto se confirma en otros estudios en los que los animales alimentados con una dieta rica en grasas en el rumen muestran un mayor número de protozoos que los que están suplementados con aceite de soya (10).

Los efectos de los sustratos que contienen taninos en la fermentación ruminal son deseables si no alteran la concentración de AGV y disminuyen la producción de amoniaco N y metano (7). Los efectos beneficiosos de los taninos condensados en concentraciones dietéticas moderadas (20–40 g/kg de MS) se asocian con la mejora del suministro de aminoácidos al intestino delgado (19) o por el efecto de ahorro de proteínas (35).

Con respecto a las características de la carne, el mayor valor de b observado con *Caesalpinia coriaria* en la dieta puede ser un indicador de que los taninos podrían proteger contra la oxidación; sin embargo, en otros estudios, los valores de color y fuerza de corte de la carne no se vieron afectados por la inclusión de plantas con taninos condensados (11) o por aceite de soya dietético (11, 24).

En conclusión, la inclusión de 2% de *Caesalpinia coriaria*, 2% de materia seca de aceite de soya o su combinación no mejora el rendimiento del cordero en dietas de corderos en crecimiento. Por lo anterior se decidió incluir *Caesalpinia coriaria* en los estudios de bloques.

Cuadro 1. Dietas experimentales y composición química.

	Control	<i>Caesalpinia coriaria</i>	Acceite de soya	<i>C. coriaria + aceite soya</i>
Sorgo	19.608	19.608	19.608	19.231
Maíz	34.804	34.804	34.804	34.135
Pasta de soya 46% PC	3.922	3.922	3.922	3.846
Melaza	11.765	9.804	9.804	9.615
Cascarilla	8.824	8.824	8.824	8.654
Cascarilla pasta soya	5.882	5.882	5.882	5.769
Urea	0.980	0.980	0.980	0.962
Canola	3.431	3.431	3.431	3.365
Gluten de maíz	1.961	1.961	1.961	1.923
Salvado de trigo	3.922	3.922	3.922	3.846
Carbonato de calcio	1.471	1.471	1.471	1.442
Premezcla Mineral ¹	0.980	0.980	0.980	0.962
Biarbonato de sodio	0.980	0.980	0.980	0.962
Cloruro de sodio	0.490	0.490	0.490	0.481
Grasa	0.980	0.941	0.941	0.808
<i>Caesalpinia coriaria</i>	-	2.000	-	2.000
Aceite de soya	-	-	2.000	2.000
Total	100.000	100.000	100.000	100.000
Contenido de nutrientes				
MS %	94.910	94.750	94.690	94.530
Cenizas %	8.990	9.460	8.900	9.370
Extracto etéreo %	3.940	5.675	3.241	5.577
Proteina cruda %	14.604	13.961	14.327	13.944
FDN %	29.739	30.150	28.953	30.489
FDA %	14.665	15.255	14.319	15.252

¹ NaCl 3000 g, Co 75 mg, Cu 5,000 mg, Cr 200 ppb, P 40 g, Fe 30,000 mg, Mn 2,000 mg, Se 100 mg, I 125 mg, Zn 10,500 mg, vitamina A 6,800 000 UI, vitamina D 630 000 IU, vitamina E 16,500 UI.

Cuadro 2. Contenido de taninos en *Caesalpinia coriacea*.

Taninos condensados, g/kg	21.71
Proteína, g/kg	3.17
Fibra, g/kg	7.18
Total taninos, g/kg	32.06

Cuadro 3. Principales efectos de *Caesalpinia coriaria* y aceite de soya sobre el rendimiento y la digestibilidad del cordero.

	Aceite de soya, %		<i>Caesalpinia coriaria</i> , %		EEM
	0	2	0	2	
Peso inicial, kg	23.95	23.48	23.46	23.97	1.777
Peso final, kg	35.64	35.53	34.74	36.43	1.490
CMS, kg/d	1.254	1.300	1.249	1.305	0.035
GDP, kg	0.292	0.301	0.282	0.311	0.016
Conversión alimenticia	4.44	4.42	4.59	4.26	0.252
Digestibilidad MS, %	84.08	81.21	83.36	81.93	2.180
Digestibilidad FDN, %	68.05 ^a	59.56 ^b	66.09	61.52	0.775
pH ruminal	5.05	5.64	5.67	5.02	0.407
<i>Longissimus dors</i> , cm ²	841.1	980.6	957.0	864.7	75.46
Características de color					
L	37.02	36.74	36.07	37.69	0.548
A	20.78	19.63	20.45	19.96	0.616
B	6.96	6.64	5.86 ^a	7.73 ^b	0.456
WBSF, kg/cm ²	785.58	687.94	783.94	689.58	80.11

^{ab} Literales distintas dentro de la fila son diferentes (P<0.05).

L, ligereza; a, color; b, amarillo; WBSF: Fuerza de corte Warner-Bratzler

Referencias

1. Abdalla, L.H.; Louvandini, S.M.; Tsai; Figueira A.V.O. 2012. In vitro evaluation, in vivo quantification, and microbial diversity studies of nutritional strategies for reducing enteric methane production. *Tropical Animal and Health Production.* 44: 953–964.
2. Anandhi, D.; Srinivasan, P.T.; Revathi, K.; Revathy E.K. 2012. Antibacterial Activity of *Caesalpinia coriaria*. *Biosciences Biotechnology Research Asia.* 8: 759-764.
3. Asquith, T.N.; Butler L.G. 1985. Use of dye-labelled protein as spectrophotometric assay for protein precipitants such as tannin. *J. Chem. Ecol.* 11: 1535–1544.
4. Association of Official Analytical Chemists. 1997. *Official Methods of Analysis.* 16th ed. Arlington, VA, USA: AOAC.
5. Barry, T.N.; McNabb, W.C.; Kemp, P.D.; Waghorn, G.C.; Min, B.R.; Luque, A. 1999. The effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon reproductive efficiency and wool production in sheep during late summer and autumn. *Proceedings New Zeland Grasland Association.* 61: 51–55.
6. Bhatta, R.; Saravanan, M.; Baruah, L.; Prasad C.S. 2015. Effects of graded levels of tannin-containing tropical tree leaves on in vitro rumen fermentation, total protozoa and methane production. *Journal of Applied Microbiology.* 118: 557–564.
7. Bhatta, R.; Uyeno, Y.; Tajima, K.; Takenaka, A.; Yabumoto, Y.; Nonaka, I.; Enishi, O.; Kurihara, M. 2009. Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production, and methanogenic archaea and protozoal populations. *Journal of Dairy Science.* 92: 5512–5522.
8. Camacho, L.M.; Rojo R.; Salem, A.Z.M.; Mendoza, G.D.; López, D.; Tinoco, J.L.; Albarrán, B.; Montañez O.D. 2010. In vitro ruminal fermentation kinetics and energy utilisation of three Mexican tree fodder species during the rainy and dry period. *Animal Feed Science and Technology.* 155: 206-212.

9. Dávila-Ramírez, J.L.; Macías-Cruz, U.; Torrentera-Olivera, N.G.; González-Ríos, H.; Soto-Navarro, S.A.; Rojo-Rubio, R.; Avendaño-Reyes L. 2014. Effects of zilpaterol hydrochloride and soybean oil supplementation on feedlot performance and carcass characteristics of hair-breed ram lambs under heat stress conditions. *Journal of Animal Science*. 92: 1184–1192.
10. Fiorentini, G.; Messana, J.D.; Dian, P.H.M.; Reis, R.A.; Canesin, R.C.; Pires, A.V.; Berchielli T.T. 2013. Digestibility, fermentation and rumen microbiota of crossbred heifers fed diets with different soybean oil availabilities in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*. 181: 26–34.
11. Francisco, A.; Dentinho, M.T.; Alves, S.P.; Portugal, P.V.; Fernandes, F.; Sengo, S.; Jerónimo, E.; Oliveira, M.A.; Costa, P.; Sequeira, A.; Bessa, R.J.B.; Santos-Silva J. 2015. Growth performance, carcass and meat quality of lambs supplemented with increasing levels of a tanniferous bush (*Cistus ladanifer L.*) and vegetable oils. *Meat Science*. 100: 275–282.
12. Hart, K.J.; Sinclair, L.A.; Wilkinson, R.G.; Huntington, J.A. 2011. Effect of whole-crop pea (*Pisum sativum L.*) silages differing in condensed tannin content as a substitute for grass silage and soybean meal on the performance, metabolism, and carcass characteristics of lambs. *Journal of Animal Science*. 89: 3663–3676.
13. Hedqvist, H.; Mueller-Harvey, I.; Reed, J.D.; Krueger, C.G.; Murphy, M. 2000. Characterization of tannins and in vitro protein digestibility of several *Lotus corniculatus* varieties. *Animal Feed Science and Technology*. 87: 41–56.
14. Jeeva, K.; Thiagarajan, M.; Elangovan, V.; Geetha, N.; Venkatachalam, P. 2014. *Caesalpinia coriaria* leaf extracts mediated biosynthesis of metallic silver nanoparticles and their antibacterial activity against clinically isolated pathogens. *Industrial Crops and Products*. 52: 714– 720.
15. Jerónimo, E.; Alfaia, C.M.M.; Alves, S.P.; Dentinho, M.T.P.; Prates, J.A.M.; Vasta, V.; Santos-Silva, J.; Bessa, R.J.B. 2012. Effect of dietary grape seed extract and *Cistus ladanifer L.* in combination with vegetable oil supplementation on lamb meat quality. *Meat Scencei*. 92: 841–847.

16. López, J.; Tejada, I.; Vázquez, C.; De Dios, G.; Shimada, A. Condensed tannins in humid tropical fodder crops and their in vitro biological activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84: 295–299.
17. Mao, H.L.; Wang, J.K.; Zhou, Y.Y.; Liu J.X. 2010. Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. *Livestock Science*. 129: 56–62.
18. National Research Council. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Washington, DC, USA: National Academy Press.
19. Patra, A.K; Saxena J. 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 91: 24–37.
20. Porter, L.J.; Hrstich, L.N.; Chan B.G. 1986. The conversion of proanthocyanidins and prodelphinidins to cyanidins and delphinidin. *Phytochem*. 25: 223–230.
21. Ripoll, G., P. Albertí, and M. Joy. 2012. Influence of alfalfa grazing-based feeding systems on carcass fat colour and meat quality of light lambs. *Meat Science*. 90: 457-464.
22. Rojas, S.; Olivares, J.; Gutiérrez, I.; Jiménez, R.; León, F.; Córdova, A. 2013. Use of *Crescentia alata* and *Guazuma ulmifolia* fruits in lamb feeding in subtropical region of Guerrero, Mexico. *Revista Científica FCV-LUZ*. 23: 157–162.
23. Rojas-Hernandez, S.; Olivares-Perez, J.; Aviles-Nova, F.; Villa-Mancera, A.; Reynoso-Palomar, A.; Camacho-Díaz L. M. 2015. Productive response of lambs fed *Crescentia alata* and *Guazuma ulmifolia* fruits in a tropical region of Mexico. *Tropical Animal and Health Production*. DOI 10.1007/s11250-015-0874-8.
24. Santos-Silva, J.; Mendes, I.A.; Portugal, P.V.; Bessa, R.J.B. 2004. Effect of particle size and soybean oil supplementation on growth performance,

- carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs. *Livestock Production Science*. 90: 79-88.
25. Silva, S.R.; Gomes, M.J.; Dias-da-Silva, A.; Gil, L.F.; Azevedo, J.M. 2005. Estimation in vivo of the body and carcass chemical composition of growing lambs by real-time ultrasonography. *Journal of Animal Science*. 83: 350-357.
26. Soares, B.S.; Furusho-Garcia, I.F.; Garcia, P.I.; Oliveira, A.D.; Rodrigues, S.G.; Katiane, A.A.; Macedo, L.C. 2012. Barbosa SJA. Performance, carcass characteristics and non-carcass components of Texel × Santa Inês lambs fed fat sources and monensin. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 41: 421–431.
27. Steel, G.D.R.; Torrie, J.H.; Dickey, D.A. 1997. Principles and procedures of statistics. A biometrical approach. McGraw-Hill, New York, USA.
28. Stock, R.A.; Brink, D.R.; Britton, R.A.; Goedeken, F.K.; Sindt, M.H.; Kreikemeier, K.K.; Bauer, M.L.; Smith, K.K. 1987. Feeding combinations of high moisture corn and dry-rolled grain sorghum to finishing steers. *Journal of Animal Science*. 65: 290-302.
29. Terrill, T.H.; Rowan, A.M.; Douglas, G.B.; Barry, T.N. 1992. Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 58: 321–329.
30. Van Keulen, J.V.; Young, B.A. 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*. 44: 282-287.
31. Van Soest, P.J.; Robertson, J.B.; Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fibre, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74: 3583-3597.
32. Vasta, V.; Nudda, A.; Cannas, A.; Lanza, M.; Priolo, A. 2008. Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. 147: 223–246.

33. Vasta, V.; Priolo, A.; Scerra, M.; Hallett, K.G.; Wood, J.D.; Doran, O. 2009. Δ(9) desaturase protein expression and fatty acid composition of longissimus dorsi muscle in lambs fed green herbage or concentrate with or without added tannins. Meat Science. 82: 357-364.
34. Wheeler, T. L.; Shackelford, S.D.; Johnson, L.P.; Miller, M.F.; Miller, R.K.; Koohmaraie, M. 1997. A comparison of Warner-Bratzler shear force assessment within and among institutions. Journal of Animal Science. 75: 2423–2432.
35. Zamiri, M.J.; Sharifabadi, R.H.; Bagheri, A.S.; Solhjoo, A. 2015. Effects of inclusion of liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) leaves, a tannin-containing plant, in a low-protein diet on feedlot performance and carcass characteristics of fat-tailed lambs. Tropical Animal and Health Production. 47: 597-602.

4. Capítulo II: Evaluación de bloques multinutricionales y minerales con dieta rastrojo de maíz para corderos en crecimiento

Resumen

Objetivo. Comparar un bloque multinutricional formulado de acuerdo a los requerimientos de nutrientes de corderos considerando la composición de la dieta basal con dos bloques comerciales. Materiales y métodos. Cuatro tratamientos: 1) dieta basal (DB 70% rastrojo de maíz y 30% grano); 2) DB + block mineral; 3) DB + block proteico; y 4) DB + block multinutricional fueron evaluados *in vivo* (28 corderos en crecimiento por 43 días), *in vitro* (cinética de producción de gas por 72 hr) e *in situ* para digestibilidad de la MS (materia seca) a las 24 y 48 hr. Resultados. El consumo de MS, eficiencia alimenticia fueron similares entre tratamientos y el uso de bloques aumentó ganancias diarias de peso y digestibilidad ($p<0.05$). El consumo fue bajo para bloque mineral, medio para multinutricional y alto para proteico ($p<0.05$), el bloque multinutricional aumentó la proporción de propionato, el pH ruminal no afectó cuando el N amoniacial fué alto con el bloque proteico. La producción de gas *in vitro* fué más alta para bloque proteico. La digestibilidad *in situ* de la MS mejoró con los bloques proteico y multinutricional y el bloque mineral mostró efectos positivos solo a las 48 hr de incubación. La suplementación con bloques mejoró la ganancia de peso y aumentó la digestibilidad de la ración basada en rastrojo de maíz. Conclusiones. La mejor respuesta en corderos se observó cuando se combinaron nutrientes orgánicos e inorgánicos.

Palabras clave: bloques, corderos, digestibilidad, formulación, mineral, multinutricional

Abstract

Objective. Compare a multinutritional block formulated considering the nutrient requirements of lambs and basal diet composition with two commercial blocks. Materials and methods. Four dietary treatments consisting of: 1) basal diet (BD

70% corn stover and 30% grain); 2) BD + mineral block; 3) BD + proteic block; and 4) BD + multinutritional block were evaluated *in vivo* (28 growing lambs for 43 days), *in vitro* (gas production kinetics for 72 h) and *in situ* for DM (dry matter) digestibility (24 and 48 h). Results. DM intake and final weight were similar among treatments and all blocks improved daily gain and digestibility. Block intake was lower for mineral blocks, intermediate for proteic and highest for the multinutritional block, which increased the proportion of propionate; ruminal pH was not affected whereas ammonia N was higher with the proteinic block. *In situ* DM digestibility was improved with the proteinic and multinutritional blocks, and the mineral block showed positive effects only at 48 h of incubation. Block supplementation improved weight gain and increased digestibility of the corn stover-based ration. Conclusions. The best response in lambs was observed when organic and inorganic nutrients were combined.

Keywords: blocks, lambs, digestibility, formulation, mineral, multinutrient.

Introducción

El uso de bloques permite suplementar nutrientes de forma continua y gradual mejorando la eficiencia de utilización de la FDN en dietas de baja calidad (1) incrementando la digestibilidad y mejorando la fermentación ruminal (2) mejorando la producción (3). La mayoría de los bloques se han formulado con las recomendaciones de la FAO (4) que no consideran los requerimientos específicos de cada etapa fisiológica ni especies de los rumiantes, tampoco consideran el consumo y dieta basal (5) la cual varía dependiendo de la época del año y la región (6) y los niveles recomendados de óxido de calcio en el bloque de la FAO, así como la poca atención del posible desequilibrio de la relación calcio/fósforo. El objetivo de este estudio fue comparar un bloque multinutricional formulado de acuerdo a los requerimientos de nutrientes de corderos considerando la composición de la dieta basal con dos bloques comerciales, un proteico y otro bloque mineral en crecimiento de corderos alimentados con dietas de baja calidad.

Materiales y métodos

Experimento de crecimiento. Se utilizaron 28 animales (23.54 ± 0.06 kg Katahdin x criollo) alojados de manera individual (50 cm espacio/cordero) en un diseño completamente al azar en cuatro tratamientos ($n=7$ borregos por tratamiento): 1) El control, dieta basal *ad libitum* (DB, en base MS) consistió 70% rastrojo maíz (2.0 cm partícula) y 30% mezcla de grano (15% maíz quebrado y 15% maíz molido); 2) La DB con bloque mineral plus (MNA S.A. de C.V., México) *ad libitum*, 3) La DB con bloque proteico plus (MNA S.A. de C.V., México) *ad libitum*, y 4) Bloque multinutricional formulado considerando requerimientos de corderos en crecimiento con ganancias diarias de 100 g (7) con una relación Ca:P de 2:1 de DB de mantenimiento. En la Cuadro 1 se muestran los ingredientes del bloque multinutricional y en la Cuadro 2 la composición química de los bloques experimentales. Se obtuvo consumo de alimento y bloque por diferencia de alimento ofrecido y rechazado el cual fue pesado diariamente. El alimento y agua limpia fue ofrecido *ad libitum*.

Los corderos fueron desparasitados con Closantel (5 mg/kg PV = peso vivo), vacunados para *Clostridium perfringens* tipo C y D, *Clostridium novyi*, *sordellii*, *chauvoei* y *septicum* (Ultrabac 7) y dosis con vitaminas A, D y E (Vigantol, Bayer; 2 mL/cordero) y un periodo de adaptación (5 días). Los corderos fueron pesados dos días consecutivos al inicio (día 0 y 1) y al final del experimento (día 42 y 43). El alimento fue ofrecido a las 8:00 y 15:00 hr. Las muestras fecales fueron colectadas durante 4 días y el día 28 se estimó la digestibilidad de la MS aparente, se colectó el alimento durante un periodo de tiempo y con cenizas ácido insolubles como marcador interno (8). Las muestras de los alimentos fueron recuperadas y analizadas durante 14 días de análisis de MS, cenizas, extracto etéreo y nitrógeno de acuerdo a AOAC (9), fibra detergente neutra (FDN) y fibra ácido detergente (FDA). Su composición química es presentada en la Cuadro 3.

El líquido ruminal (50 mL) fue extraído el día 43 a las 7:00 hr (los corderos tuvieron 16 hr de ayuno), acidificando con 1 mL de ácido sulfúrico (300 g/L) y se almacenó en un congelador (-20 °C) para su posterior análisis de ácidos grasos volátiles (AGV) por cromatografía de gases (10) y nitrógeno amoniacial (N-NH₃) (17). Se

evaluó el consumo de alimento y del bloque, ganancia diaria de peso (GDP) y conversión alimenticia (relación de kg de ganancia y kg de alimento consumido) fueron evaluados.

Producción de gas *in vitro*. Las muestras de DB y bloques fueron secadas (55 °C), molidas (1 mm) y se mezclaron 0.5 kg de acuerdo a la proporción del ensayo, resultando cuatro mezclas (tratamientos) usadas para estimar los efectos de los bloques sobre los parámetros de producción de gas, mediante un diseño completamente al azar. En frascos ambar de 100 mL de capacidad fueron preparados con 500 mg de MS de dicha mezcla, con cuatro tubos por tratamiento. Los inóculos consistieron en líquido ruminal obtenido mediante una sonda esofágica de dos borregos (34 ± 1.6 kg PV) alimentados en una relación 50:50 forraje:concentrado de la ración. Los inóculos se obtuvieron antes de la alimentación matutina de los animales fueron mezclados y filtrado en ocho capas de tela gasa en un matraz enjuagado con CO₂. A continuación, se añadieron 10 ml de líquido ruminal libre de partículas a cada botella y se añadieron 80 mL de solución tampón usada por Goering and Van Soest (12) bajo flujo continuo de CO₂ para mantener las condiciones anaeróbicas. Cada matraz se cerró herméticamente con un tapón de goma y un anillo metálico y se incubó en baño maría a 38°C. La presión del gas se midió con un manómetro (modelo 63100, METRON, México) a 0, 2, 4, 6, 8, 10, 14, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 60 y 72 hr de incubación. Los valores de presión fueron transformadas a volumen de gas con la ecuación de regresión lineal $V = (P + 0.0186)/(0.0237)$. Estimando los siguientes parámetros para producción de gas: fase lag (h), volumen máximo (Vmax; mL/g MS de sustrato) y tasa (S; h⁻¹) de producción de gas con el modelo propuesto por Menke y Steingass (13): $Vo = Vm/(1 + e(2-4*s*(t-L)))$. Al final de la incubación, los residuales de cada frasco fueron filtrados usando un matraz Buchner con un papel filtro para estimar la digestibilidad de MS *in vitro*. El residuo de la fermentación fue secado a 65°C durante una noche antes de pesar.

Digestibilidad *in situ*. La digestibilidad *in situ* fue determinada en las mezclas utilizando bolsas de poliéster de 5 x 10 cm (\varnothing pore 52 + 10 µm), incubando 1 g por bolsa en triplicado e incubándolo por 24 y 48 hr en el rumen de un borrego

canulado (50 kg PV), una vez retiradas las bolsas se lavaron y secaron durante 24 hr a 65 °C en un horno de aire forzado para determinar la desaparición de la MS *in situ*.

Análisis estadístico. Los resultados fueron analisados de acuerdo a un diseño completamente al azar donde los tratamientos fueron considerados como efectos fijos. Las medias fueron comparadas con la prueba Tukey y las diferencias entre los tratamientos fué considerada a $p \leq 0.05$ y tendencia a $p \leq 0.10$. Los datos fueron analizados con JMP7 software.

Resultados

En la Cuadro 4 se observa el consumo de la MS, eficiencia alimenticia y peso final fueron similares entre los tratamientos ($p>0.05$). Todos los bloques mejoraron la digestibilidad, obteniendo mejor respuesta con el bloque proteico 44.51% ($p\leq 0.05$). La digestibilidad de MS mejoró en un 10.7% con bloques proteicos sin afectar el consumo. El consumo fue bajo para bloques minerales, medio para multinutricional y alto para proteico (32.72, 96.54 y 172.95 g/día respectivamente). Con respecto al patrón de fermentación, el bloque multinutricional aumentó la proporción de propionato 24.9% ($p\leq 0.05$). El pH ruminal no se afectó por la suplementación de bloque ($p>0.05$), y la concentración de N amoniacial en rumen fué alta con bloque proteico 9.0 N-NH₃ mg/L. La producción de gas *in vitro* se redujo con el bloque de proteína ($p\leq 0.05$), todos los bloques mejoraron la tasa de producción de gas (Cuadro 5). La digestibilidad *in situ* a las 24 y 48 hr mejoró con los bloques proteínicos (49.91, 52.72% 24 y 48 hr) y multinutricionales (52.72, 58.85% 24 y 48 hr), mientras que el bloque mineral mostró efectos positivos a las 48 hr de incubación 54.70% (Cuadro 5).

Discusión

La respuesta en ganancia con bloques ha variado de mantenimiento a ganancias moderadas, y depende de los nutrientes en los bloques y en las raciones basales (14). Los resultados en este experimento indicaron que la limitación de nutrientes en dietas con rastrojo de maíz es principalmente la proteína. En la formulación del bloque multinutricional se consideró la inclusión de aditivos para mejorar el estado energético del cordero, como el propionato de

calcio (15), levadura para mejorar digestibilidad (16), selenio y cromo de fuentes orgánicas para estimular respuesta inmunológica (17), cebolla deshidratada la cual contiene alicina, un sulfuro contenido en compuestos orgánicos (18) y metionina ruminalmente protegida, pero la falta de respuesta en el crecimiento podría deberse a la falta de lisina metabolizable (7) como se observó en otros experimentos con dietas a base de rastrojo de maíz (19).

En algunos estudios, el consumo ha mejorado con la suplementación con bloque (2,20). En este experimento la digestibilidad aumentó sin afectar el consumo, en contraste, en el experimento reportado por Wu et al (2) la digestibilidad incrementó el 13.1% mejorando el consumo; en el experimento reportado por Usman et al (20) el consumo mejoró cuando la digestibilidad *in vitro* de la MS aumentó un 11.39%. Por lo tanto, se plantea la hipótesis de que sólo cuando el impacto del bloque modifica sustancialmente la digestión se pueden esperar incrementos en la ingesta voluntaria.

El aumento de la digestibilidad puede asociarse con el contenido de proteína; la suplementación con nitrógeno de dietas a base de paja aumentó la digestibilidad asociada a incrementos en las zoosporas fúngicas y las bacterias celulolíticas como *Ruminococcus albus*, *Fibrobacter succinogenes* y *Ruminococcus flavefaciens* (21), se ha reportado con el uso de diferentes bloques elaborados con urea, melaza y minerales (2). Una respuesta positiva en la digestibilidad observada con el bloque mineral en este experimento también se puede atribuir a las bacterias ruminantes, estudios sobre requerimientos minerales de las bacterias indican un crecimiento de *F. succinogenes*, *R. albus* y *R. flavefaciens* en respuesta positiva al Mg, y de algunas bacterias amilolíticas al calcio (22). Dado que las dietas de baja calidad tienen minerales insuficientes para satisfacer las necesidades microbianas, la suplementación con bloques minerales estimula el crecimiento microbiano (23) lo que explica la respuesta positiva a bloques minerales.

El consumo de bloque mineral en este estudio fue bajo coincidiendo con lo reportado por Mendoza et al (24), donde los ciervos Brocket tuvieron un consumo de bloque mineral de 6.7 g/día y bloque proteíco de 60.2 g/día. Distintos factores

pueden afectar el consumo de bloques; el bajo consumo de bloque mineral puede ser explicado por la alta cantidad de cloruro de sodio utilizada en la formulación (normalmente 90%). Otro factor que puede afectar el consumo es la dureza; Forsberg et al (25) reportó que la dureza del bloque reduce el consumo en corderos de 50 a 179 g/día a 8 y 20 g/día, y Barnes (26) comparó minerales sueltos versus bloque mineral y observaron que el consumo de bloque es bajo (4.6 g/día) que los minerales sueltos (16.8 g/día) en caballos.

Respecto a las respuestas fermentativas, Cherdthong et al. (27) también observaron que las concentraciones de propionato incrementaron *in vitro* con aumento en niveles de urea – sulfato de calcio en bloques. En este experimento la concentración de nitrógeno amoniacal fué alta, de forma similar en un experimento *in vitro*, el nitrógeno amoniacal fue más alto con el uso de bloques que contenían urea, y el pH no fué alterado (28). Estudios *in vivo* de bloques con melaza y urea mostraron que los niveles de nitrógeno amoniacal se incrementaron (3) por la hidrólisis de la urea.

La producción de gas *in situ* puede aumentar con la suplementación de bloques (2), resultados similares de parámetros de producción de gas fueron observados con bloques con urea o proteína *in vitro* (27). El hecho de que la producción de gas *in vitro* se redujo y la digestibilidad aumentó con bloques sugieren que los bloques estimularon la síntesis de proteína microbiana; sin embargo, esta variable no fué medida. Wu et al. (2) no encontraron diferencias en el tiempo lag con bloques utilizando forrajes de baja calidad para la digestión de FDN *in situ*; otros estudios sobre el efecto de diferentes niveles de melaza:glicerol sobre el rendimiento no afectó el tiempo lag de la digestión del forraje (30).

Se concluyó que la suplementación con bloques mejoró el aumento de peso y mejoró la digestibilidad de la ración. La formulación de los bloques modificó la respuesta de los corderos, siendo mejor cuando se combinaron nutrientes orgánicos e inorgánicos. La inclusión de más nutrientes mejora la eficiencia de la utilización de la alimentación, y la proteína parece ser el nutriente más importante en los bloques.

Cuadro 1. Ingredientes del bloque multinutricional (% inclusión)

Ingredientes	% Inclusión
Melaza de caña	45.00
Rastrojo de maíz	15.00
Pasta de soya	4.00
Cebolla deshidratada	0.50
Urea	10.00
Cemento	3.00
Cloruro de sodio	1.00
Mineral premezcla A ¹	6.00
Oxido de calcio	7.00
Mineral premezcla B ²	1.00
Levadura de cromo	0.15
Metionina ruminalmente protegida ³	1.00
Propionato de calcio	1.00
Biocolina ⁴	1.00
BHT	0.20
Acido fosfórico	3.00
Sulfato de sodio	1.00
Mineral premezcla C ³	0.15
TOTAL	100.00

¹Vitasal Engorda Ovinos Plus®: Ca 270 g, P 30 g, Mg 7.5 g, Na 65.5 g, Cl 100 g, K 0.5 g, S 42 mg, lasalocid 2000 mg, Mn 2000 mg, Zn 3000 mg, Se 20 mg, Co 15 mg, vitamina A 35,000 UI, vitamina D 150,000 UI y vitamina E 150 UI. ²Biotecap: Ca 1.88%, P 2.20%, Mg 1.40%, Na 0.035%, Cl 0.15%, Se org 18.65 ppm, Cr org 5 ppm, Cu org 500 ppm, Zn org 2050 ppm, Mn org 215 ppm, Co org 13.50 ppm, I org 23.80 ppm, Fe org 5000 ppm, levadura viva 5% (*Saccharomyces cerevisiae* 2 × 10¹⁰ CFU/g). ³Mepron metionina ruminalmente protegida, Evonik, Mexico. ⁴Ovy ways®: Se 590 ppm, Cr 990 ppm, Cu 1500 ppm, Zn 300 ppm, Mn 3000 ppm, Co 30 ppm, I 30 ppm, levadura viva 1.0 × 10⁹ UFC/g, vitamina E 40 UI.

Cuadro 2. Contenido nutricional de los bloques

Item	Mineral	Proteico	Multinutricional
Proteína cruda	—	30.0	28.97
Extracto etéreo	—	0.9	0.26
Ca, %	8.5	2.5	8.5
P, %	9.0	1.3	1.38
Mg, %	1.2	—	0.47
K, %	—	0.8	1.46
Na, %	—	6.9	1.31
S, %	—	—	0.43
Cu, %	520	—	70.77
I, mg/kg	96	—	8.42
Fe, mg/kg	740	—	1505.52
Mn, mg/kg	2030	*	304.82
Se, mg/kg	10	*	4.55
Zn, mg/kg	2600	*	522.78
Co, mg/kg	12	*	5.76
Vitamina A, IU/kg	210000	107600	30196
Vitamina D, IU/kg	27500	26400	18000
Vitamina E, IU/kg	32	30	62.28

Cuadro 3. Composición química de la dieta basal y de los bloques (base seca)

	Bloques			
	Ración basal	Mineral	Proteico	Multinutricional
Materia seca, %	91.07	97.07	94.22	91.62
Cenizas, %	6.00	67.51	24.18	27.58
Proteína cruda, %	8.60	5.53	31.78	32.80
FDN, %	62.39	12.82	22.28	11.16
FDA, %	35.25	1.40	6.37	3.02
Extracto etéreo, %	1.47	1.66	1.84	2.12

Cuadro 4. Respuesta productiva de corderos y variables fermentativas con diferentes bloques con dietas en base a rastrojo de maíz

Item	Ración basal	Bloque			EEM	<i>P</i>
		Mineral	Proteico	Multinutricional		
<i>Respuestas productivas</i>						
Peso inicial, kg	19.57	19.60	19.54	19.46	0.941	0.99
Peso final, kg	20.66	21.43	24.34	22.57	0.612	0.39
CMS, g/día	723.94	748.18	717.18	771.44	0.727	0.83
GDP, g	25 ^b	43 ^b	114 ^a	74 ^{ab}	0.203	0.005
CA	15.28	45.18	46.26	14.33	0.379	0.71
Consumo bloque, g/día	–	32.72 ^c	172.95 ^a	96.54 ^b	0.007	0.0001
Digestibilidad,%	33.79 ^b	38.54 ^{ab}	44.51 ^a	41.90 ^a	0.081	0.006
<i>Respuestas fermentativas</i>						
Ruminal ph	7.11	7.09	6.78	6.93	0.067	0.286
Total AGV, mmol/L	41.29 ^a	25.31 ^b	36.97 ^{ab}	35.52 ^{ab}	2.071	0.044
Acetato, %	72.24	75.53	72.45	69.12	0.905	0.133
Propionato, %	19.65 ^{ab}	16.48 ^b	19.51 ^{ab}	24.90 ^a	1.031	0.031
Butirato, %	8.10	7.97	8.03	5.97	0.355	0.109
N-NH ₃ mg/L	2.16 ^b	2.58 ^b	9.00 ^a	5.70 ^b	0.979	0.0006

EEM = error estándar de la media; CMS=consumo materia seca; GDP= ganancia diaria de peso; CA= conversión alimenticia; *P*: valor de probabilidad.

^{ab} Literales distintas dentro de la fila son diferentes (*P* < 0.05).

Referencias

- 1.Garg MR, Gupta BN. Effect of supplementing urea molasses mineral block lick to straw based diet on DM intake and nutrient utilization. *Asian-Australas J Anim Sci* 1992; 5:39–44.
- 2.Wu YM, Hu WL, Liu JX. Effects of supplementary urea-minerals lick block on the kinetics of fibre digestion, nutrient digestibility and nitrogen utilization of low quality roughages. *J Zhejiang Univ Sci B* 2005; 6:793–7.
- 3.Sudana IB, Leng RA. Effects of supplementing a wheat straw diet with urea or a urea-molasses block and/or cottonseed meal on intake and live weight change of lambs. *Anim Feed Sci Tech* 1986; 16: 25–35.
- 4.Sansoucy R, Aarts G, Leng RA. Molasses-urea blocks as a multinutrient supplement for ruminants. Sugarcane as Feed: Proceedings of an FAO Experts Consultation held in Santo Domingo, Dominican Republic from 7–11 July 1988; 7–11.
- 5.Zervas G, Rissaki M, Deligeorgis S. Free-choice consumption of mineral lick blocks by fattening lambs fed ad libitum alfalfa hay and concentrates with different trace mineral content. *Livest Prod Sci* 2001; 68: 251–8.
- 6.Haenlein GFW, Ramírez RG. Potential mineral deficiencies on arid rangelands for small ruminants with special reference to Mexico. *Small Rumin Res* 2007; 68: 35–41.
- 7.NRC. Nutriment Requirements of Sheep. National Academy Press, Washington, DC, USA 2007; 6th edn, pp. 112.
- 8.Van Keulen J, Young BA. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Anim Sci J* 1977; 44:282–7.

- 9.AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA 1990; 15th edn. pp. 1298.
- 10.Erwin ES, Marco GJ, Emery E. Volatile fatty acids analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J Dairy Sci* 1961; 44: 1768–71.
- 11.McCullough H. The determination of ammonia in whole blood by direct colorimetric method. *Clin Chim Acta* 1967; 17:297–304.
- 12.Goering H K and Van Soest P J. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications), Agric. Handbook No. 379. Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture (ArsUSDA). Washington, DC, USA. 1970.
- 13.Menke K, Steingass H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim Res Dev* 1988; 28: 9–52.
- 14.Martínez-Martínez R, Lopez-Ortiz S, Ortega-Cerrilla ME, Soriano-Robles R, Herrera-Haro JG, Lopez-Collado J, Ortega-Jimenez E. Preference, consumption and weight gain of sheep supplemented with multinutritional blocks made with fodder tree leaves. *Livest Sci* 2012; 149: 185–9.
- 15.Mendoza MGD, Pinos-Rodríguez JM, Lee-Rangel HA, Hernández-García PA, Rojo-Rubio R, Relling A. Effects of dietary calcium propionate on growth performance and carcass characteristics of finishing lambs. *Anim Prod Sci* 2015; 56:1194–8
- 16.García CCG, Mendoza MGD, González MS, Cobos PM, Ortega CME, Ramírez LR. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and monensin on ruminal fermentation and digestion in sheep. *Anim Feed Sci Technol* 2000; 83:165–70.

- 17.Domínguez VIA, González MSS, Pinos RJM, Bórquez GJL, Bárcena GR, Mendoza MGD, Zapata LE, Landois PLL. Effects of feeding selenium-yeast and chromium-yeast to finishing lambs on growth, carcass characteristics, and blood hormones and metabolites. *Anim Feed Sci Technol* 2009; 52: 42–9.
- 18.Block E. The chemistry of garlic and onions. *Sci Am* 1985; 251: 114–9.
- 19.Sánchez AE, Ortega ME, Mendoza G, Montañez OD, Buntinx SE. Rastrojo de maíz tratado con urea y metionina protegida en dietas para ovinos en crecimiento. *Interciencia* 2012; 37: 395–9.
- 20.Usman FM, Siddiqui MM, Habib G. Effect of urea-molasses block supplementation on nutrient digestibility and intake of ammoniated maize stovers in cow-calves. *Pak Vet J* 2004; 24:13–7.
- 21.Wanapat M, Phesatcha K, Kang S. Rumen adaptation of swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*) by high level of urea supplementation when fed on rice straw-based diet. *Trop Anim Health Prod* 2016; 1–6.
- 22.Morales MS; Dehority BA. Magnesium requirement of some of the principal rumen cellulolytic bacteria. *Animal* 2014; 8:1427–32.
- 23.De D, Singh G P. Effect of cold process monensin enriched urea molasses mineral blocks on performance of crossbred calves fed a wheat straw based diet. *Anim Feed Sci Technol* 2003; 103: 51–61.
- 24.Mendoza MGD, Martínez JAG, Plata FXP, Sánchez MT. Experiencias en el uso de bloques nutricionales en temazates en cautiverio. XIX Congreso Anual de la Asociación Latinoamericana de Parques Zoológicos y Acuarios (ALPZA) IXXX Congreso Anual de la Asociación de Zoológicos y Acuarios de Mexico (AZCARM). 19–22 June 2012. Valsequillo, Puebla, Mexico.

- 25.Forsberg NE, Al-Maqbaly R, Al-Halhali A, Ritchie A, Srikanthakumar A. Assessment of molasses–urea blocks for goat and sheep production in the Sultanate of Oman: Intake and growth studies. *Trop Anim Health Prod* 2002; 34:231–9.
- 26.Barnes JC. Effect of block and loose forms on ad libitum mineral consumption in equine. MSc Thesis. 2005.Texas A&M University-Commerce, Commerce, TX, USA.
- 27.Cherdthong A, Wanapat M, Wongwungchun W, Yeeekeng S, Niltho T, Rakwongrit D, Khota W, Khantharin S, Tangmutthapatharakun G, Phesatcha K, Foiklang S, Kang S, Anantasook N, Gunund P. Effect of feeding feed blocks containing different levels of urea calcium sulphate mixture on feed intake, digestibility and rumen fermentation in Thai native beef cattle fed on rice straw. *Anim Feed Sci Technol* 2014; 198:151–7.
- 28.Ampapon T, Wanapat M, Kang S. Rumen metabolism of swamp buffaloes fed rice straw supplemented with cassava hay and urea. *Trop Anim Health Prod* 2016; 48: 779–84.
- 29.Toppo S, Verma AK, Dass RS, Mehra UR. Nutrient utilization and rumen fermentation pattern in crossbred cattle fed different planes of nutrition supplemented with urea molasses mineral block. *Anim Feed Sci Technol* 1997; 64: 101–12.
- 30.Ciriaco F M, Henry D, Mercadante V R G, Schulmeister T, Ruiz-Moreno M, Lamb G C and DiLorenzo N. Effects of different levels of supplementation of a 50:50 mixture of molasses: crude glycerol on performance, Bermuda grass hay intake, and nutrient digestibility of beef cattle. *Anim Sci J* 2015; 93:2428–38.

6. Capítulo III: Efecto del propionato de calcio en bloques sobre respuesta productiva, CH₄ y CO₂ en corderos

Resumen

Objetivo: Evaluar dos bloques multinutricionales formulados para mejorar el crecimiento de los corderos alimentados con una dieta basal de bajo valor nutritivo, con y sin propionato de calcio (Pr-Ca), evaluando el crecimiento de los corderos, digestibilidad y las emisiones de gases efecto invernadero *in vivo* e *in vitro*. Materiales y métodos: Se utilizaron 12 borregos (20.17 ± 2.35 Katahdin x criollo) en tres tratamientos: Dieta basal (DB 70% paja de avena; 30% concentrado), DB+ Bloque sin Pr-Ca y DB + Bloque con 1.5% de Pr-Ca, por 50 días. Se midió producción de gas (PG) *in vitro* y se estimaron los parámetros (Vmax, S, Lag). Se estimaron la digestibilidad, CH₄ y CO₂ *in vitro* e *in vivo*. Resultados: El consumo fue menor ($P<0.0001$) en borregos sin bloque (753 g/d) en comparación con bloque sin (839 g) o con Pr-Ca (828 g) metano mayor con bloques (16.16 y 16.18 g/d; 0 y 1.5% Pr-Ca respectivamente) que con DB (13.93 g/d). La PG *in vitro* fue mayor ($P=0.0001$) con la DB (380.76, ml) sin diferencias entre bloques (335.76 y 341.13 ml, 0 y 1.5% Pr-Ca respectivamente), y la DB tuvo mayor ($P=0.0001$) producción de CH₄ (47.16 mol) y CO₂ (200.04 mol) que con bloques (42.25 y 41.58 mol CH₄; 179.21 y 176.39 moles CO₂; 0 y 1.5% Ca-Pr respectivamente). Conclusiones: La suplementación con bloques mejora el consumo. *In vitro* los bloques redujeron la producción de gas e incrementaron la digestibilidad reduciendo CH₄ y CO₂.

Palabras clave: aditivo, bloque multinutricional, gases efecto invernadero, pequeño rumiante, suplementación.

Abstract

Objective: To evaluate two multinutritional blocks formulated to improve the growth of lambs fed a basal diet of low nutritional value, with and without calcium propionate (Pr-Ca), evaluating the growth of lambs, digestibility and gas emissions effect greenhouse *in vivo* and *in vitro*. Materials and methods: 12 sheep (20.17 ± 2.35 Katahdin x criollo) were used in three treatments: Basal diet (DB 70% oat straw, 30% concentrate), DB + Block without Pr-Ca and DB + Block with 1.5% of Pr -Ca, for 50 days. Gas production (PG) was measured *in vitro* and the parameters were estimated (Vmax, S, Lag). The digestibility, CH₄ and CO₂ were estimated *in vitro* and *in vivo*. Results: Consumption was lower ($P < 0.0001$) in sheeps without block (753 g / d) compared to block without (839 g) or with Pr-Ca (828 g) greater methane with blocks (16.16 and 16.18 g / d) 0 and 1.5% Pr-Ca respectively than with DB (13.93 g / d). The *in vitro* PG was higher ($P = 0.0001$) with DB (380.76, ml) without differences between blocks (335.76 and 341.13 ml, 0 and 1.5% Pr-Ca respectively), and DB had higher ($P = 0.0001$) production of CH₄ (47.16 mol) and CO₂ (200.04 mol) than with blocks (42.25 and 41.58 mol CH₄, 179.21 and 176.39 moles CO₂, 0 and 1.5% Ca-Pr respectively). Conclusions: Supplementation with blocks improves consumption. *In vitro* the blocks reduced gas production and increased digestibility by reducing CH₄ and CO₂.

Key words: additive, multinutrient block, greenhouse gases, small ruminant, supplementation.

Introducción

Se han realizado varios estudios sobre las emisiones de gases efecto invernadero (GEI) para evaluar la contribución de los ruminantes y las alternativas para mitigar el problema (1,2), el cual representa arriba del 12% de la energía consumida (3,4). Para reducir estas pérdidas y hacer que la producción sea más eficiente, se han usado ionóforos (5,6), precursores gluconeogénicos (7,8), lípidos (9), nitratos (10) y sustratos herbales (11) que en ocasiones no mejoran el

rendimiento (12) o no impactan la fermentación (13) y los más eficientes como los ionóforos han sido prohibidos porque son antibióticos.

El uso de propionato de calcio (Pr-Ca) como una fuente de alimentación no convencional ha sido utilizada en corderos para reducir el consumo de granos, incrementando el propionato ruminal (14). Su potencial para reducir el metano se explica porque durante su disociación captura el ion de hidrógeno reduciendo su disponibilidad para formar metano (15). Se sabe que las emisiones de GEI pueden reducirse si se mejora la digestibilidad, lo cual se puede lograr con una nutrición adecuada, particularmente en rumiantes alimentados con dietas con forrajes de baja calidad (16). Esto puede realizarse por la suplementación de bloques multinutricionales (BM) que han sido evaluados en todo el mundo (17), sin embargo, la respuesta no ha sido constante porque durante muchos años la FAO promovió una fórmula de bloque para todas las condiciones (18) cuando los requerimientos de nutrientes son diferentes por etapas fisiológicas y con una diversidad de dietas basales. Por lo tanto, el objetivo de este experimento fue evaluar dos bloques multinutricionales formulados con el fin de mejorar el crecimiento de los corderos alimentados con una dieta basal de bajo valor nutritivo, con o sin Pr-Ca, evaluando el impacto en el crecimiento del cordero, digestibilidad y en las emisiones de GEI *in vivo* e *in vitro*.

Materiales y métodos

Doce corderos Katahdin x criollo (20.17 ± 2.35 peso inicial (PI)) alojados en jaulas individuales con acceso al alimento y agua limpia *ad libitum*. Al comienzo del experimento, los corderos fueron desparasitados (Closantel 5 mg/kg PV) y vitaminados (A, D y E, Vigantol ® de Bayer 2 ml/cordero).

Los corderos fueron distribuidos en un Diseño Completamente al Azar (n=4 corderos) en tres tratamientos: dieta basal sin suplementar (DB: 70% rastrojo de maíz, 30% concentrado (Cuadro 1), DB con acceso a bloque multinutricional con o sin 1.5% de Pr-Ca (Alimentaria Mexicana Bekarem, Ciudad de México) (Cuadro 2). El alimento y los bloques fueron ofrecidos *ad libitum*. La dieta basal fue diseñada con bajo valor nutricional para evaluar el impacto de la suplementación siendo

representativa de los productores de la región. Los bloques multinutricionales (BM) fueron formulados considerando las recomendaciones del NRC (19) estimando un consumo de 100 g/d bloque (20). La dieta basal y bloques fueron analizados para determinar: materia seca, materia orgánica, proteína cruda (21), fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA) (22) (Tabla 3).

El experimento duró 50 días. Los corderos fueron pesados con 12 horas de ayuno. En el día 24 las muestras fecales fueron recolectadas por cuatro días consecutivos (23) para determinar la digestibilidad del tracto total de la MS usando ceniza de ácido insoluble como marcador interno (24). Las ecuaciones de IPCC fueron usadas (25) para estimar el metano ruminal utilizando el factor de emission annual (FE) por cordero, donde el Ym o fracción de la energía bruta del alimento transformado a CH₄ fue calculado utilizando la digestibilidad de cada tratamiento con ecuaciones para cordero (26). Las emisiones de dióxido de carbono fueron estimadas del consumo de carbohidratos digestibles (27), que se usaron para estimar los moles de hexosa fermentados en el rumen usando el peso molecular de glucosa anhidra (28). El patrón de fermentación fue de la relación forraje:concentrado (29) y por las ecuaciones estequiométricas de Wolin (30) reportado por Van Soest (31) fueron calculados los moles de CO₂ producidos.

La producción de gas derivada de la fermentación ruminal fue determinada por la técnica de gas *in vitro* (32). La DB se utilizó como sustrato incubado con cada BM en una proporción del 5% de la dieta basal. Antes de la incubación, los sustratos se secaron a 55 °C por 48 h en un horno y fue molido (<2 mm). Quinientos miligramos de cada tratamiento se colocaron en botellas ámbar de 125 ml de capacidad. Después se incubaron en condiciones anaeróbicas con 90 ml de un inóculo diluido (1:10) de bacterias del rumen obtenidas de dos corderos en ayuno. Los frascos fueron herméticamente sellados e incubados a 39°C por 72 h en baño maría. El volumen de gas producido se registró a las 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 42, 48, 60 y 72 h y los valores de presión transformados a volumen de gas con la ecuación de regresión lineal, usada para estimar los parámetros de la cinética de producción de gas: volumen máximo de gas (Vm; mL g⁻¹ MS del

sustrato), tasa de producción de gas ($S; h^{-1}$) y el tiempo lag de la fermentación (L; h), con el modelo: $V_o=Vm/(1+ e(2-4*s^*(t-L)))$ (32). Al final de la fermentación se obtuvo la materia seca residual (MS) para calcular la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) a las 72 h de incubación, cada tratamiento incubado por triplicado. El CH₄ y CO₂ *in vitro* fueron estimados del volumen máximo de gas. Las cadenas cortas de aminoácidos fueron calculadas con la ecuación de Getachew (33) y la proporción de metano y dióxido de carbono los factores estequiométricos utilizados fueron 0.538 mmol para CO₂ y 0.348 mmol CH₄ como se describe en otros estudios *in vitro* (34).

Los resultados de los corderos *in vivo* se analizaron con un Diseño Completamente al Azar, considerando cada borrego como unidad experimental y tratamientos con efectos fijos. El peso inicial fue analizado como covariable utilizando el software JMP (35). Los parámetros de cinética de gas *in vitro* fueron estimados usando modelos no lineales JMP (36). Se estimó la correlación simple entre los resultados de GEI *in vivo* e *in vitro* (35).

Resultados

La suplementación con BM incrementó el consumo ($P<0.01$) por 10%, sin embargo, no se encontraron diferencias en otras variables (Cuadro 4). La suplementación con bloques no redujo las emisiones diarias de metano y CO₂ debido al mayor consumo de alimento. El propionate de calcio en el bloque no redujo el consumo ni emisiones de GEI. En el cuadro 5 se muestran los parámetros de gas *in vitro*. La dieta basal resultó con un alto volumen de gas ($P<0.001$) y como consecuencia, se produjeron más moles de CH₄ y CO₂ ($P < 0.0001$). No hubo diferencias entre los bloques por la inclusión de Pr-Ca en el bloque. La digestibilidad *in vitro* no se vió afectada por la suplementación con bloque. Los valores de digestibilidad *in vitro* fueron correlacionados con los observados *in vivo* ($r= 0.9964, P=0.054$), y la digestibilidad *in vivo* está asociada con la ganancia diaria de peso ($r=0.99768, P=0.0434$). Las emisiones de metano y dióxido de carbono fueron positivamente correlacionadas con el consumo de materia seca ($r= 0.9921, P=0.07; r=0.9920, P=0.08$). El metano y dióxido de

carbono *in vivo* e *in vitro* mostraron una alta correlación negativa ($r= -0.99$, $P=0.07$; $r=-0.99$, $P=0.07$).

Discusión

Como se observó en este experimento, que el BM estimula el consumo (37) pero hay estudios donde no tuvieron efecto (38). La composición de los bloques puede modificar el consumo (39), existiendo interacciones entre contenido de nutrientes en el bloque y en la dieta basal. En esos estudios, cuando mejora el consumo, generalmente se han observado mayores ganancias diarias o peso final (37) y en algunos casos, esto se asocia con una mayor digestibilidad (37) y consumo de nutrientes. En este estudio la ganancia fue mejorada en un 35% pero el bajo número de repeticiones y la variación no nos permitió detectar diferencias. El tipo de bloque puede tener diferentes efectos en el consumo y la digestibilidad. Al modificar la fuente de energía afectó el consumo de bloque sin afectar la digestibilidad (38). El aumento de los niveles de urea- sulfato de calcio en el bloque, dió como resultado incremento en el consumo y la digestibilidad (40).

La incorporación de Pr-Ca en el BM no mejoró el rendimiento del cordero ni las emisiones de dióxido de carbono. Si los valores de metano y dióxido de carbono *in vivo* fueran expresados por kg de materia seca consumida resultarían valores similares (DB 1.84, 1.95 y 1.92 for BM con 0 ó 1.5% Pr-Ca) lo que indica que el consumo de bloques y sus aditivos fueron insuficientes para modificar la fermentación ruminal. En otras evaluaciones, el Pr-Ca no afectó el consumo o mejoró el rendimiento del cordero con mayor consumo de Pr-Ca que en este experimento, 1% MS (14), 1 or 2 % MS (41) y arriba de 5.5% MS (42). La cantidad consumida en el bloque estuvo por debajo de esos estudios para mostrar los efectos hipofágicos (43). Los resultados de gas *in vitro* indican que los bloques reducirían el metano, pero los valores *in vivo* contradicen esto ya que aumentan el consumo. Se debe tener precaución al extrapolar los resultados de los estudios de gas *in vitro* donde no se presentan datos *in vivo* (44). Con respect a otros parámetros de gas *in vitro* se ha reportado que el 1% Pr-Ca aumenta la fase Lag pero no afecta el patrón de fermentación ó pérdidas de metano (45). En otro estudio *in vitro* con 10% de Pr-Ca, el volume de gas aumentó el cual fue atribuido

a los efectos sobre pH y a la presión osmótica (15). En una evaluación *in vivo* con toros recibieron 20 g/d de Pr-Ca, no afectaron la fermentación ni la población microbiana (46), pero la dosis fue muy baja.

El uso de BM podría reducir el tiempo de los corderos para alcanzar el peso final de 44 a 60 días suplementando sin ó con propionate de calcio respectivamente, reduciendo emisiones diarias, y podría ser una alternativa para reducir las emisiones globales de GEI. La mayoría de los estudios se centran en datos diarios, pero es importante considerar los efectos y su impacto sobre el calentamiento global en términos de tiempo (25).

Conclusión

La suplementación con bloques multinutricionales en dietas de baja calidad mejoró el consumo. *In vitro* los bloques redujeron la producción de gas y aumentaron la digestibilidad.

Cuadro 1. Composición de la dieta experimental basal (materia seca) concentrado de forraje 70:30

Ingredientes	Inclusion, %
Paja de Avena	70.00
Grano de maíz	9.22
Pasta de soya	11.00
Sorgo	8.80
Sal	1.00
Total	100.00

Cuadro 2. Formulación de bloques experimentales

	Propionato calcio 0%	Propionato calcio 1.5%
Melaza	31.81	31.91
Urea	9.09	9.11
Propionato de calcio	0	1.50
Pasta de soya	4.54	4.55
Harina de canola	2.27	2.27
Harina de pescado	2.27	2.27
Sal	4.54	4.55
Premezcla mineral ^a	4.54	4.55
Cal	4.54	4.55
Cemento	4.54	4.55
Premezcla mineral org.	0.90	0.91
Salvado de trigo	9.09	9.11
Cascarilla	4.54	4.55
Maíz grano	8.18	6.38
Grano de trigo	9.09	9.11

^a Vitasal Engorda Ovinos Plus contiene: Ca 270 g, P 30 g, Mg 7.5 g, Na 65.6 g, Cl 100 g, K 0.5 g, S 42 mg, Fe 978 mg, Zn3000 mg, Se 20 mg, Co15 mg, vitamina A 35 000 UI, vitamina D 1 500 000 UI and vitamina E 150 UI.

^b Ovy ways 3 contiene: Selenio 590 mg, Cromo 990 mg, Cobre 1500 mg, yodo 3000 mg, Zinc 3000 mg, Manganese 3000 mg, Levadura viva.

Cuadro 3. Composición química de la dieta basal y bloques experimentales multinutricionales

	Ración basal	Bloques	
		Ca-Pr 0%	Ca-Pr 1.5%
MS, %	89.28	89.32	89.26
Cenizas, %	4.47	7.63	7.73
MO, %	95.53	92.36	92.25
PC, %	11.05	11.53	11.76
FDN, %	40.28	36.71	36.50
FDA, %	14.85	13.77	13.57
EE, %	3.13	2.72	2.72

Ca-Pr: Propionato de calcio en bloque; DM: materia seca; OM: materia orgánica; CP: proteína bruta; NDF: fibra detergente neutra; ADF: fibra detergente ácida; EE: extracto etéreo

Cuadro 4. Rendimiento productivo y emisión de metano y dióxido de carbono de corderos suplementados con bloques con o sin propionato de calcio

	Control	Bloques		SEM	<i>P</i> -valor
		Ca-Pr 0%	Ca-Pr 1.5%		
Peso inicial, kg	21.23	19.70	19.60	0.40	0.59
Peso final kg	23.98	23.25	23.52	0.74	0.94
Consumo MS, g	753 ^c	839 ^b	828 ^a	0.01	0.0001
Consumo bloque, g	0.0 ^b	82 ^a	86 ^a	6.48	0.0001
GDP, g	0.098	0.126	0.140	0.34	0.36
Conversión alimenticia	9.94	6.98	6.39	0.37	0.51
Digestibilidad MS%	76.87	80.04	81.22	0.28	0.32
CH ₄ g/d	13.93 ^b	16.16 ^a	16.18 ^a	0.003	0.004
CO ₂ g/d	55.29 ^b	64.15 ^a	64.24 ^a	0.003	0.004

Ca-Pr: Propionato de calcio en bloque; SEM, error estándar de la media; BW, peso corporal; ADG, ganancia diaria promedio, MS, materia seca.

^{ab} Medias con diferentes superíndices difieren (*P* <0.05)

Cuadro 5. Parámetro de producción de gas *in vitro* y dieta basal de incubación de metano y dióxido de carbono más bloques con o sin propionato de calcio

Ítem	Control	Bloque			EEM	<i>P</i> -valor
		PrCa 0%	PrCa 1.5%			
Vmax, ml	380.76 ^a	335.76 ^b	341.13 ^b	0.567	0.0044	
S, h ⁻¹	0.030 ^b	0.033 ^a	0.032 ^a	0.108	0.0005	
Lag, h	2.87	3.10	2.79	0.059	0.1283	
DIVMS, %	60.96	63.89	64.58	0.622	0.0734	
CH ₄ mol	47.16 ^a	41.58 ^b	42.25 ^b	0.568	0.0044	
CO ₂ mol	200.04 ^a	176.39 ^b	179.21 ^b	0.567	0.0044	

Referencias

1. Patra, A.; Park, T.; Kim, M.; Yu, Z. 2017. Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. *Journal Animal Science Biotechnology*. 8: 13.
2. Pérez-Barbería, F. J. 2017. Scaling methane emissions in ruminants and global estimates in wild populations. *Science of the Total Environment*. 579: 1572-1580.
3. Mendoza-Martínez, G. D.; Plata-Pérez, F. X.; Espinosa-Cervantes, R.; Lara-Bueno, A. 2008. Manejo nutricional para mejorar la eficiencia de utilización de la energía en bovinos. *Universidad y Ciencia*. 24: 75-87.
4. Noguera R. R.; Posada, S. L.; Cardona, L. 2016. Efecto de diferentes niveles de nitrato de calcio sobre la degradación de la materia seca y la producción de metano en una fermentación ruminal in vitro de pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinus Hochst. Ex Chiov.*). *Livestock Research for Rural Development*. 28.
5. Crossland, W. L.; Tedeschi, L. O.; Callaway, T. R.; Miller, M. D.; Smith, W. 2016. Effects of rotating antibiotic and ionophore feed additives on enteric methane and rumen microbial populations of steers consuming a high forage diet. *Journal Animal Science*. 94: 666-667.
6. Spears, J. W. 1990. Ionophores and Nutrient Digestion and Absorption in ruminants¹²³. *Journal of Nutrition*. 120: 632-638.
7. Ferraro, S. M.; Mendoza, G. D.; Miranda, L. A.; Gutiérrez, C. G. 2009. *In vitro* gas production and ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses. *Animal Feed Science Technology*. 154: 112-118.
8. Ferraro, S. M.; Mendoza, G. D.; Miranda, L. A.; Gutiérrez, C. G. 2016. *In vitro* ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses combined with forages and their effect on glucose and insulin blood plasma

- concentrations after an oral drench in sheep. Animal Feed Science and Technology. 74-80.
9. Beauchemin, K. A.; McGinn, S. M. 2006. Methane emissions from beef cattle: effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil. Journal of Animal Science. 84: 1489-1496.
 10. Lee, C.; Araujo, R. C.; Koenig, K. M.; Beauchemin, K. A. 2017. *In situ* and *in vitro* evaluation of a slow release form of nitrate for ruminants: Nitrate release rates, rumen nitrate metabolism and production of methane, hydrogen, and nitrous oxide. Journal of Animal Science. 95: 283-284.
 11. Medjekal, S.; Bodas, R.; Bousseboua, H.; López, S. 2017. Evaluation of three medicinal plants for methane production potential, fiber digestion and rumen fermentation *in vitro*. Energy Procedia. 11: 632-641.
 12. Liu, Q.; Wang, C.; Yang, W. Z.; Guo, G.; Yang, X. M.; He, D. C.; Dong, K. H.; Huang, Y. X. 2010. Effects of calcium propionate supplementation on lactation performance, energy balance and blood metabolites in early lactation dairy cows. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 94: 605-614.
 13. Avila, J. S.; Chaves, A. V.; Hernandez-Calva, M.; Beauchemin, K. A.; McGinn, S. M.; Wang, Y.; Harstad, O. M.; McAllister, T. A. 2011. Effects of replacing barley grain in feedlot diets with increasing levels of glycerol on *in vitro* fermentation and methane production. Animal Feed Science and Technology. 166: 265-268.
 14. Lee-Rangel, H. A.; Mendoza, G. D.; González, S. S. 2012. Effect of calcium propionate and sorghum level on lamb performance. Animal Feed Science and Technology. 177: 237-241.
 15. Osorio-Teran, A. I.; Mendoza-Martínez, G. D.; Miranda-Romero, L. A.; Martínez-Gómez, D.; Hernández-García, P. A.; Martínez-García, J. A. 2017.

- Effect of calcium propionate and monensin on in vitro digestibility and gas production. Revista Brasileira de Zootecnia. 46: 348-353.
16. Yue-ming, W. U.; Wei-lian, H. U.; Jian-xin, L. I. U. 2005. Effects of supplementary urea-minerals lick block on the kinetics of fibre digestion, nutrient digestibility and nitrogen utilization of low quality roughages. Journal of Zhejiang University Science B. 6: 793-797.
17. Mendoza, G. D.; Plata, F. X.; Vázquez, G.; Sánchez-Trocino, M; Hernández, P. A, Martínez, J. A. 2017. Intake and digestibility with nutritional blocks for brocked deers (*Mazama americana* and *Mazama temama*). International Journal Applied Research in Veterinary Medicine. 15: 26-30.
18. Makkar, H. P.; Sánchez, M.; Speedy, A. W. 2007. Feed supplementation blocks: urea-molasses multinutrient blocks: simple and effective feed supplement technology for ruminant agricultura (No. 164). Food & Agriculture Org.
19. NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. First ed. National Research Council, National Academic Science, Washington, DC, USA. 292.
20. Birbe, B.; Herrera, P.; Colmenares, O.; Martínez, N. 2006. El consumo como variable en el uso de bloques multinutricionales. In X Seminario Manejo y Utilización de Pastos y Forrajes en Sistemas de Producción Animal. Universidad del Zulia, Facultad de Ciencias Veterinarias. Ed. Tejos R, Zambrano C, Mancilla L, Valbuena N. 43-61.
21. AOAC, Association of Official Analytical Chemists. Methods of Analysis. 1995. Washington D.C., USA.
22. Van Soest, P. J.; Robertson, J.B.; Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal Dairy Science. 74: 3583-3597.

- 23.Hernández, P. A.; Mendoza, G. D.; Castro, A.; Lara, A.; Plata, F. X.; Martínez, J. A.; Ferraro, S. 2001. Effects of grain level on lamb performance, ruminal metabolism and leptin mRNA expression in perirenal adipose tissue. *Animal Production Science*. 57: 2001-2006.
- 24.Keulen, V.; Young, B. A. 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*. 44: 282-287.
- 25.IPCC Fourth Assessment Report: Climate Change. Intergovernmental Panel on Climate Change. 2007. Cambridge University Press, Cambridge.
- 26.Cambra-López, M.; García-Rebollar, P.; Estellés, F.; Torres, A. 2008. Estimación de las emisiones de los rumiantes en España: El Factor de Conversión de Metano. *Archivos de Zootecnia*. 57: 89-101.
- 27.ARC. The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock. 1980. Commonwealth Agricultural Bureax, Surrey, UK.
- 28.Briceño, P. E. G.; Ruiz, G. A.; Chay, C. A. J.; Ayala, B. A. J.; Aguilar, P. C. F.; Solorio, S. F. J.; Ku, V. J. C. 2012. Voluntary intake, apparent digestibility and prediction of methane production by rumen stoichiometry in sheep fed pods of tropical legumes. *Animal Feed Science and Technology*. 176: 17-122.
- 29.Ørskov, E. R.; Flatt, W. P.; Moe, P. W. 1968. Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of volatile fatty acid formation in ruminants. *Journal of Dairy Science*. 51: 1429–1435.
- 30.Wolin, J. M. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of Dairy Science*. 40: 1452-1459.
- 31.Van Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminants. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press. Ithaca USA and London UK.

32. Menke, K. H.; Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Research Development Journal. 27:7-55.
33. Getachew, G.; Makkar, H. P. S.; Becker, K. 2002. Tropical browses: contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. The Journal of Agricultural Science. 139:(3) 341-352.
34. Blümmel, M.; Steingaß, H.; Becker, K. 1997. The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and ¹⁵N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. British Journal of Nutrition. 77: 911-921.
35. Sall, J.; Lehman, A.; Stephens, M.; Creighton L. 2012. 'JMP® start statistics: a guide to statistics and data analysis.'5th ed. SAS Institute Inc.: Cary, NC.
36. McCormack, D. W. Jr. Making Exploration of Nonlinear Models Fast and Easy Using JMP® 10 SAS Institute Inc., Cary, NC Paper 2012; 326-2012.
37. Faftine, O. L. J.; Zanetti, A. M. 2010. Effect of multinutrient block on feed digestibility and performance of goats fed maize stover during the dry season in south of Mozambique. Livestock Research for Rural Development. 22: 162.
38. Wadhwa, M.; Bakshi, M. P. S. 2014. Nutritional evaluation of urea molasses multi-nutrient blocks containing agro-industrial wastes in buffaloes. Indian Journal Animal Science. 84: 544-548.
39. Bhatt, R. S., & Sahoo, A. (2017). Effect of feeding complete feed block containing rumen protected protein, non-protein nitrogen and rumen protected fat on improving body condition and carcass traits of cull ewes. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 101(6), 1147-1158.
40. Cherdthong, A.; Wanapat, M.; Wongwungchun, W.; Yeeekeng, S.; Niltho, T.; Rakwongrit, D.; Khota, W.; Khantharina, S.; Tangmuththapatharakuna, G.;

- Phesatchaa, K.; Foiklanga, S.; Kang, S.; Anantasook, N.; Gunund, P. 2014. Effect of feeding feed blocks containing different levels of urea calcium sulphate mixture on feed intake, digestibility and rumen fermentation in Thai native beef cattle fed on rice straw. *Animal Feed Science and Technology*. 198: 151-157.
41. Mendoza-Martínez, G. D.; Pinos-Rodríguez, J. M.; Lee-Rangel, H. A.; Hernández-García, P. A.; Rojo-Rubio, R.; Relling, A. 2016. Effects of dietary calcium propionate on growth performance and carcass characteristics of finishing lambs. *Animal Production Science*. 56: 1194-1198.
42. Berthelot, V.; Bas, P.; Schmidely, P.; Duvaux-Ponter, C. 2001. Effect of dietary propionate on intake patterns and fatty acid composition of adipose tissues in lambs. *Small Ruminant Research*. 40: 29–39.
43. Bradford, B. J.; Allen, M. S. 2007. Phlorizin administration does not attenuate hypophagia induced by intraruminal propionate infusion in lactating dairy cattle. *The Journal of Nutrition*. 137: 326–330.
44. Elghandour, M. M., Salem, A. Z., Khusro, A., Cipriano-Salazar, M., Olivares-Pérez, J., Barros-Rodriguez, M. A., & Coyote, R. L. (2017). Assessment of some browse tree leaves on gas production and sustainable mitigation of CH₄ and CO₂ emissions in dairy calves at different age. *Journal of cleaner production*, 162, 1192-1199.
45. Miranda, L. A.; Lee-Rangel, H. A.; Mendoza-Martínez, G. D.; Crosby-Galván, M. M, Relling, A. E.; Pinos-Rodríguez, J.M.; Rojo, R. R.; González, H. M. 2017. Influence of calcium propionate on in vitro fermentation of sorghum-based diets. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. 49.
46. Yao, Q.; Li, Y.; Meng, Q.; Zhou, Z. 2017. The effect of calcium propionate on the ruminal bacterial community composition in finishing bulls. *Asian Australas Journal Animal Science*. 30: 495-504.

7. Capítulo IV: Nivel nutricional y uso de fuentes herbales en bloques sobre CH₄ y CO₂ en corderos

Resumen

El objetivo fue evaluar el efecto en dos niveles de nutrición y suplementación con bloques multinutricionales (BM) utilizando hierbas nutracéuticas sobre el crecimiento de corderos y emisiones de CH₄ y CO₂. Treinta y dos corderos en dos niveles de nutrición (dieta basal de mantenimiento (DBM) 9.36% PC, 2.35 Mcal EM/kg MS; dieta basal crecimiento (DBC) 13.75% PC, 2.73 Mcal EM/kg MS), en dos períodos (30 y 50 días). Los BM incluyen (Biocolina: OptiLisina: OptiMetionina) en proporción ((0:0:0), (3:0:0), (3:0.75:0.25)) con grupo control sin suplementar. Las emisiones de CH₄ y CO₂ se estimaron utilizando digestibilidad y consumo *in vivo*. Se determinó cinética de producción de gas y digestibilidad *in vitro*. Los corderos en DBM mostraron bajo rendimiento ($P<0.05$), el grupo sin suplementar perdieron peso (-0.25 g/d) la ganancia mejoró ligeramente con BM (24 g/d (3:0:0)), mostrando mayor respuesta (49 g/d (3:0.75:0.25) y 46 g/d (0:0:0)) con los bloques que contienen más proteína. Durante el periodo de crecimiento (DBC), las ganancias mejoraron ($P<0.05$), siendo más altas con los bloques que contenían más hierbas (215 g/d (3:0.75:0.25)). El metano (0.555 g/d) y dióxido de carbono (2.203 g/d) disminuyeron ($P <0.05$) con el bloque (0:0:0) y sin suplementación (0.638 CH₄ g/d; 2.532 CO₂), la producción global de gas fue menor con bloque (3:0.75: 0.25) reduciendo días de emisión. La digestibilidad *in vitro* de la MS mejoró linealmente ($P=0.05$). El uso de fuentes herbales puede ser utilizado en bloques para suplementar corderos, disminuyendo las emisiones de CH₄ y CO₂ al reducir el tiempo de engorda.

Palabras clave: colina. corderos. lisina. metionina. productos herbales.

Abstract

El objetivo fue evaluar el efecto en dos niveles de nutrición y suplementación con bloques multinutricionales (BM) utilizando hierbas nutracéuticas sobre el crecimiento de corderos y emisiones de CH₄ y CO₂. Treinta y dos corderos en dos

niveles de nutrición (dieta basal de mantenimiento (DBM) 9.36% PC, 2.35 Mcal EM/kg MS; dieta basal crecimiento (DBC) 13.75% PC, 2.73 Mcal EM/kg MS), en dos períodos (30 y 50 días). BM include (Biocholine: OptiLisine: Opti-Methionine) in proportion ((0: 0: 0), (3: 0: 0), (3: 0.75: 0.25)) with control group without supplementation. CH₄ and CO₂ emissions were estimated using digestibility and in vivo consumption. Kinetics of gas production and *in vitro* digestibility were determined. The lambs in DBM showed low yield ($P < 0.05$), the unsupplemented group lost weight (-0.25^bg / d) the gain improved slightly with BM (24^{ab} g / d (3: 0: 0)), showing greater response (49^a g / d (3: 0.75: 0.25) and 46^a g / d (0: 0: 0)) with the blocks containing the most protein. During the growth period (DBC), gains improved ($P < 0.05$), being higher with the blocks containing more herbs (215^a g/d (3: 0.75: 0.25)). Methane (0.555^bg / d) and carbon dioxide (2,203^bg / d) decreased ($P < 0.05$) with the block (0: 0: 0) and without supplementation (0.638^b CH₄ g/d, 2.532^b CO₂), global gas production was lower with block (3: 0.75: 0.25) reducing emission days. *In vitro* DM digestibility improved linearly ($P = 0.05$). The use of herbal sources can be used in blocks to supplement lambs, reducing CH₄ and CO₂ emissions by reducing the fattening time.

Keywords: hill Lambs lysine methionine herbal products.

Introducción

Para obtener un crecimiento adecuado en corderos se debe considerar un correcto balance de nutrientes que cubra las exigencias nutricionales de acuerdo a la etapa fisiológica en la que se encuentre el rumiante (NRC, 2007). En la etapa de crecimiento de ovinos se consideran limitantes la metionina y lisina por lo que varios estudios reportan mejor respuesta productiva al incluirlas en la dieta y de forma conjunta (Patton, 2010; Awawdeh, 2016; Han et al. 2016) y protegida de la degradación ruminal.

Otro nutriente poco considerado en nutrición ovina es la colina, cuyo metabolismo está relacionado con la metionina debido a que ambos son donadores de grupo metilo; pero además la colina interviene en la síntesis de

fosfolípidos de membranas celulares y tiene funciones importantes en el transporte de lípidos hepáticos (Niculescu y Zeisel, 2002; Cole et al. 2012). Se han realizado estudios en rumiantes suplementando colina y metionina protegidos de la degradación ruminal con efectos positivos sobre la producción (Ardalan et al. 2010; Tsiplakou et al. 2017).

Existen reportes que indican que hay productos herbales con propiedades nutracéuticas que pueden aportar colina y aminoácidos (Hernández-Reyes et al. 2017; Rodríguez-Guerrero, 2018) que por contener metabolitos de la planta (Hernández et al. 2007, FrAnKIČ et al. 2009) también pueden influir en la fermentación ruminal y podrían mejorar la digestibilidad y productividad de los animales e influir sobre la producción de gases efecto invernadero (Mao et al. 2010).

El nivel nutricional puede afectar la respuesta a los suplementos (Sinclair et al. 2014) y los bloques se han usado para complementar nutrientes en dietas de baja calidad con buenas respuestas en rumiantes (Usman et al. 2004; Unal et al. 2005). Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de dos niveles de nutrición y la suplementación con bloques multinutricionales que contienen productos herbales con propiedades nutracéuticas (lisina, metionina y colina) sobre la respuesta productiva, estimando el efecto en la emisión de gases efecto invernadero de corderos en crecimiento.

Materiales y métodos

El experimento se dividió en dos períodos con una duración de 30 y 50 días para el primer y segundo periodo respectivamente. Se utilizaron 32 corderos (peso inicial 15.63 ± 2.86 Katahdin x criollo), los cuales recibieron vitaminas (Vigantol vitamina A, D y E de Bayer 2/ml) y fueron desparasitados (Closantel 5 mg/kg de PV) al inicio del experimento. Se usó un diseño completamente al azar distribuidos ($n=8$ borregos) donde se ofrecieron en dos períodos subsecuentes dos dietas con diferente nivel de nutrición (mantenimiento 9.36% PC, 2.35 Mcal EM/kg MS y para cubrir necesidades de crecimiento 13.75% PC, 2.73 Mcal EM/kg MS; NRC, 2007).

Se tuvo un grupo testigo y tres que recibieron tres bloques formulados para corderos en crecimiento considerando 100 g/d consumo de bloque (NRC, 2007; Cuadro 1) incluyendo productos herbales nutracéuticos Biocolina, OptiLisina y OptiMetionina (TechnoFeed, México, Nuproxa Suiza, Indian Herbs Co.) manteniendo una relación lisina: metionina (3:1) con una relación forraje: concentrado de 70:30 durante el periodo de mantenimiento y 50:50 en la ración de crecimiento. Los tratamientos suplementarios quedaron de acuerdo a la proporción de los productos herbales dentro del bloque (Biocolina: OptiLisina: OptiMetionina) quedaron: a) ración basal sin bloque, b) (0:0:0), c) (3:0:0), y d) (3:0.75:0.25). Los corderos recibieron alimento y agua *ad libitum*.

Se midió el consumo de alimento y de bloque por diferencia entre lo ofrecido y rechazado. Los corderos fueron pesados dos días consecutivos al inicio de cada periodo (día 0 y 1) y al final del experimento para estimar ganancia diaria de peso (GDP) y conversión alimenticia (relación de kg de consumo/ GDP). El alimento fue ofrecido a las 8:00 y 15:00 h. Se colectaron muestras de heces durante 4 días (Hernández et al. 2001) en el día 32 del segundo periodo para estimar digestibilidad de la materia seca usando cenizas ácido insolubles como marcador interno (Keulen y Young, 1977). Se determinó la composición química de raciones en cada periodo y bloques de materia seca, materia orgánica, proteína cruda (AOAC, 1995) y fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA) (Van Soest, 1994) (Cuadro 2). Se usaron las ecuaciones del IPCC (2007) para estimar el metano ruminal con el factor de emisión anual para ovinos, usando la digestibilidad de cada tratamiento con ecuaciones para ovinos (Cambra et al. 2008). Las emisiones de dióxido de carbono se estimaron a partir del consumo de carbohidratos digestibles (ARC, 1980), estimando los moles de hexosa fermentados en el rumen utilizando el peso molecular de la glucosa anhidra (Briceño et al. 2012). Se usó el patrón de fermentación de acuerdo a la relación forraje concentrado de cada periodo usando los datos reportados por Orskov et al. (1968) y mediante las ecuaciones estequiométricas de Wolin (1960) reportadas por Van Soest (1994) se calcularon los moles de CO₂ producidos. Se estimó la

producción total de CH₄, CO₂, g/d en relación con los días que alcanza peso al mercado (Cuadro 5).

Producción de gas *in vitro*. Las muestras de las raciones y de bloques fueron secadas (55 °C), molidas (1 mm). Se utilizaron frascos (100 ml), el tratamiento control y los tratamientos considerando como sustrato una relación 70:30 (forraje:concentrado), a los cuales se les añadió el 10 y 20% de bloque de acuerdo al tratamiento siendo el primer porcentaje el equivalente al consumo promedio de bloque en el ensayo *in vivo*, manteniendo 500 mg por cada frasco. Los inóculos consistieron en líquido ruminal de dos borregos (34 ± 1.6 kg PV) alimentados en una relación 50:50 forraje: concentrado de la ración. Los frascos fueron incubados en condiciones anaeróbicas con 90 ml de un inóculo diluido (1:10) de bacterias ruminales obtenidas de corderos en ayuno. Los frascos fueron herméticamente sellados e incubados a 39 °C por 72 h en baño maría. El volumen de gas producido fue registrado a las 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 42, 48, 60 y 72 h, al final de la fermentación la materia residual (MS) se utilizó para calcular la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) a las 72 h de incubación, los tratamientos fueron incubados por triplicado. Los valores de presión fueron transformados a volumen de gas con la ecuación de regresión lineal $V = (P + 0.0186) (0.0237)^{-1}$, posterior se estimaron los parámetros de cinética de producción de gas: volumen máximo de gas (Vm; ml g⁻¹ MS de sustrato), tasa de producción de gas (S; h⁻¹) y tiempo lag de la fermentación (L; h), con el modelo: $Vo = Vm / (1 + e^{(2-4 \cdot s \cdot (t-L))})$ (Menke y Steingass, 1988). El CH₄ y el CO₂ *in vitro* se estimaron a partir del volumen máximo de gas y los ácidos grasos de cadena corta se calcularon con la ecuación de Getachew et al. (2002) usando la proporción de factores estequiométricos de 0.538 mmol para CO₂ y 0.348 mmol de CH₄ descritas para estudios *in vitro* (Blümmel et al. 1997).

Análisis estadístico. Los resultados de las variables productivas se analizaron mediante un Diseño Completamente al Azar con mediciones repetidas en tiempo (dos periodos) y las medias fueron comparadas con la prueba Tukey con un alfa de P≤ 0.05, usando el JMP (Herrera y García, 2010).

Los resultados del experimento *in vitro* se analizaron de acuerdo a un Diseño Completamente al Azar y se probaron los efectos lineal y cuadrático del nivel de inclusión de bloque (Steel et al. 1997). El nivel de bloque que promovía la máxima producción CH₄ y CO₂ se estimó a partir de la segunda derivada de la ecuación cuadrática (Myers, 1971). Finalmente se realizó una correlación de variables evaluadas *in vitro* e *in vivo* (Steel et al. 1997).

Resultados

La composición de las raciones se muestra en el Cuadro 1 donde se confirman las diferencias en nutrientes, destacando que para el periodo de mantenimiento el contenido de proteína fue menor que en el periodo de crecimiento (9.36 vs. 13.75 %) con cambios en otros elementos asociados a la ración forraje concentrado. La composición de los bloques se muestra en el cuadro 2 donde se aprecian diferencias en el contenido de proteína.

Respuesta productiva

Durante el período de mantenimiento (Cuadro 3) no se observaron diferencias significativas para las variables peso final, consumo de la ración y de bloque ($P>0.05$), pero si para ganancia diaria de peso donde los tratamientos suplementados obtuvieron limitadas ganancias a diferencia del tratamiento sin suplementar, donde los corderos mostraron pérdidas de peso ($P=0.012$).

Cuando los corderos recibieron la ración de crecimiento, se observaron diferencias ($P<0.05$) en consumo (ración y bloque) con diferencias en la ganancia de peso, donde el grupo sin suplemento tuvo las menores ganancias de peso (Cuadro 3). La eficiencia de utilización del alimento fue mayor para los tratamientos con bloque, siendo el bloque (0:0:0) el de mejor respuesta que sin bloque ($P=0.063$).

Emisiones de metano y dióxido de carbono

La emisión diaria de CH₄ y CO₂ se redujo ($P < 0.05$) con el bloque (0:0:0) que tuvo mayor concentración de proteína y con el tratamiento basal en el periodo de crecimiento. A pesar de que la emisión diaria del tratamiento (3:0.75:0.25) fue mayor, al mejorar la ganancia de peso y reducir el tiempo de engorda el impacto global de metano y dióxido de carbono es menor (Cuadro 5). La suplementación con bloques en promedio reduce el metano en un 68.2% y el dióxido de carbono en 63.7%.

Cinética de gas in vitro

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca del tratamiento (3:0.75:0.25) se incrementó en forma lineal al aumentar la proporción de bloque ($P=0.05$) y efecto cuadrático para las variables volumen de gas, tasa de producción y tiempo lag ($P<0.0001$). En el bloque sin productos herbales (0:0:0) las variables CH₄ y CO₂ presentaron una respuesta cuadrática a medida ($P<0.05$) y la concentración máxima de gases se estimó con 9.5 % de inclusión de bloque.

Discusión

Los resultados indican que el nivel de proteína en la ración tiene un efecto importante en el crecimiento; con efecto limitante en raciones de mantenimiento sobre la ganancia diaria de peso, coincidiendo con resultados de Dabiri y Thonney (2004) donde los corderos mostraron respuesta lineal en la ganancia diaria de peso y peso final al aumentar el nivel de proteína en la dieta. Los resultados son similares a los de Kaya et al. (2009) quienes observaron menores ganancias de peso con 10% de proteína cruda en comparación con 13% de proteína. Además, al aumentar el nivel de proteína se mejora el consumo, reflejándose en mayores nutrientes (Hatfield et al. 1998)

En el periodo de crecimiento el consumo mejoró, siendo menor con el tratamiento que carecía de productos herbales y en el grupo sin suplemento. Algunos nutrientes pudieron estimular el consumo; la colina ha mejorado el

consumo en ganado lechero (Zom et al. 2011), pero otros no, por ejemplo, los aminoácidos en rumiantes no tienen impacto en consumo; Beaty et al. (1994) suplementaron con lisina protegida a vacas y no se modificó el consumo. Los efectos de aportar diversos nutrientes se detectan en los cambios de peso. Experimentos con nutrientes evaluados muestran que cada uno puede tener impacto, por ejemplo, Alonso-Meléndez et al. (2016) suplementaron cabras lactantes con metionina protegida y observaron una respuesta lineal a la dosis en el peso vivo.

La conversión fue menos eficiente para el tratamiento sin suplementar y no se detectaron diferencias entre suplementos, presumiblemente por el reducido número de repeticiones, sin embargo, en un experimento donde se incluyó Biocolina con o sin metionina protegida, Rodríguez-Guerrero et al. (2018) tampoco detectaron diferencias en la eficiencia de utilización del alimento en corderos en crecimiento lo que atribuyeron a una deficiencia de lisina en la dieta; la relación lisina metionina fue mantenida 3:1 en este experimento al formular bloques con productos herbales.

La digestibilidad no presentó diferencias significativas en el ensayo *in vivo*. Sánchez et al. (2012) con metionina protegida suplementando dietas con rastrojo tratado tampoco encontraron cambios en ovinos y Rodríguez-Guerrero et al. (2018) al incluir metionina protegida y BioColina tampoco, sin embargo; existe un reporte de incrementos en la digestibilidad en respuesta al suministro de colina (El-Gendy et al. 2012).

En el ensayo *in vitro* al suplementar con la combinación de productos herbales (3:0.75:0.25) la digestibilidad se incrementó. Hay pocas evaluaciones de estos productos *in vitro*, Nam et al. (2014) no tuvieron diferencias en digestibilidad con lisina y metionina protegidas lo cual se puede explicar porque los aminoácidos son degradados por las bacterias. Sin embargo, la Biocolina aporta conjugados totales de colina en forma de fosfolípidos y las bacterias Gram-negativas tienen fosfatidilcolina (Aktas et al. 2010) y además los productos herbales contienen otros metabolitos; Mendoza et al. (2018) reportaron más de 100 metabolitos en cada

uno de estos productos herbales entre los que destacan α -Phellandrene, α -ionone, Trans-2-Undecenal, 2 Pentanol and Z 2 Octenal y 4-vinylguaiacol con propiedades bacteriostáticas, bactericidas, antioxidantes y antinflamatorias (Esatbeyoglu et al. 2015; An et al. 2017) que deben estudiarse sus efectos en los microorganismos ruminantes.

Beauchemin et al. (2008) indican que el uso de algunas plantas que contienen metabolitos secundarios pueden reducir la producción de metano. A pesar de que la producción de metano y CO₂ para el bloque con productos herbales (3:0.75:0.25) fue mayor, la estimación de gases de efecto invernadero debe de hacerse en forma global dado que al mejorar el consumo y la ganancia se reducen los días de emisión; Charmley et al. (2008) confirman que si se reducen los días al sacrificio por mejor crecimiento asociado a calidad de la dieta, se impacta en las emisiones totales de gases lo que coincide con los resultados de este estudio.

Conclusión

La inclusión de fuentes herbales puede ser utilizado en bloques para suplementar corderos en crecimiento. Es importante que las raciones cumplan los requerimientos de proteína y energía, pues los bloques pueden ayudar en condiciones limitantes pero no compensan totalmente raciones de baja calidad. La suplementación con bloques permite reducir las emisiones de metano y dióxido de carbono al reducir el tiempo de engorda por lo que se puede impactar significativamente en las emisiones de gases efecto invernadero.

Cuadro 1. Formulación de bloques experimentales (Biocolina: lisina: metionina)

	(0:0:0)	(3:0:0)	(3:0.75:0.25)
Melaza	40	40	40
Maíz molido	9.85	9	9
Pasta de soya	10	5	5
Urea	10	10	10
Cemento	5.15	5.85	4.85
Premezcla mineral	6	6	6
Cal	5	4	4
Sulfato de sodio	0	1	1
Ovi3 ways	0	0.15	0.15
Rastrojo maíz	13	13	13
Biocolina	0	3	3
Propionato de sodio	0	1	1
Hexametafosfato de sodio	0	2	2
Metionina	0	0	0.25
Lisina	0	0	0.75
Sal	1	0	0

Vitasal Engorda Ovinos Plus®: Ca 270 g, P 30 g, Mg 7.5 g, Na 65.5 g, Cl 100, K 0.5 g, S 42 mg, Lasolacida 2000 mg, Mn 2000 mg, Zn 3000 mg, Se 20 mg, Co 15 mg, vitamina A 35,000 UI, vitamina D 150,000 UI y vitamina E 150 UI.

Cuadro 2. Composición química de los bloques, periodo de mantenimiento y crecimiento

	Ración basal		Bloques (Biocolina: lisina: metionina) %		
	Mantenimiento	Crecimiento	(0:0:0)	(3:0:0)	(3:0.75:0.25)
MS, %	95.09	89.75	93.98	95.46	89.36
MO, %	94.90	95.41	80.89	77.02	78.42
Cenizas, %	5.10	4.59	19.11	22.98	21.58
PC, %	9.36	13.75	40.63	35.13	39.87
FDN, %	48.71	48.20	17.04	13.63	18.68
FDA, %	21.19	17.06	5.66	3.66	7.59
EE, %	1.47	2.06	2.44	1.31	0.55
ME Mcal/kg		2.73	2.96	2.89	2.99

MS: materia seca; MO: materia orgánica; PC: proteína cruda; FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácida; EE: extracto etéreo; EM: energía metabolizable, 100% requerimiento NRC.

Cuadro 3. Respuesta productiva en periodos mantenimiento y crecimiento, estimación CH₄, CO₂

	Ración basal	(0:0:0)	(3:0:0)	(3:0.75:0.25)	EEM	P
<i>Mantenimiento</i>						
Peso inicial, kg	16.31	15.81	15.31	15.08	0.62	0.845
Peso final, kg	15.7	17.28	16.08	16.67	0.73	0.831
CMS, kg	0.542	0.512	0.466	0.529	0.81	0.729
Consumo bloque, g/d	0	86.63	74.88	83.88	0.84	0.0001
Consumo total, kg	0.542	0.598	0.541	0.613	0.85	0.720
GDP, g	-0.25 ^b	46 ^a	24 ^{ab}	49 ^a	0.86	0.012
<i>Crecimiento</i>						
Peso inicial, kg	16.90	16.88	16.87	16.90	1.25	1.000
Peso final, kg	23.56 ^b	25.78 ^{ab}	26.91 ^{ab}	27.67 ^a	0.50	0.0001
CMS, kg	1.02	0.95	0.99	1.08	0.07	0.0001
Consumo bloque, g/d	0.00	138.3	104.43	94.19	0.02	0.0001
Consumo total, kg	1.121 ^{ab}	0.945 ^b	1.084 ^{ab}	1.222 ^a	0.001	0.0001
GDP, g	134 ^b	198 ^{ab}	200 ^{ab}	215 ^a	0.50	0.003
CA	10.41 ^a	4.78 ^b	5.97 ^{ab}	5.88 ^{ab}	0.57	0.063
Digestibilidad, %	75.67	81.98	79.92	82.67	0.95	0.341
CH ₄ , g/d	0.638 ^b	0.555 ^b	0.666 ^{ab}	0.776 ^a	0.002	0.0001
CO ₂ , g/d	2.532 ^b	2.203 ^b	2.647 ^{ab}	3.080 ^a	0.002	0.0001

Consumo de materia seca (CMS), ganancia diaria de peso (GDP), conversion alimenticia (CA), metano (CH₄), dioxido de carbono (CO₂), ^{abc}Literales diferentes en la fila son diferentes (P<0.05)

Cuadro 4. Respuesta de cinética de gas (0:0:0, 3:0:0, 3:0.75:0.25)

	Vm, ml	s, h ⁻¹	Lag, h	DIVMS, %	CH ₄ , mol	CO ₂ , mol
Ración					43.112	182.87
basal	348.1	0.0307	2.54	63.59		
(0:0:0)						
10%	369.80	0.326	2.49	64.47	45.801	194.28
20%	325.43	0.034	3.07	65.69	40.303	170.95
<i>Lineal</i>	0.23	0.18	0.91	0.16	0.03	0.03
<i>Cuadrático</i>	0.74	0.03	0.02	0.98	0.01	0.01
(3:0:0)						
10%	358.53	0.031	2.02	65.13	44.405	188.35
20%	354.33	0.033	2.46	66.77	43.885	186.15
<i>Lineal</i>	0.10	0.03	0.80	0.33	0.38	0.38
<i>Cuadratico</i>	0.79	0.07	0.29	0.22	0.37	0.37
(3:0.75:0.25)						
10%	355.37	0.030	2.10	66.34	44.013	186.69
20%	356.13	0.033	2.32	65.01	44.108	187.09
<i>Lineal</i>	0.26	0.02	0.08	0.05	0.53	0.53
<i>Cuadrático</i>	0.004	0.0005	0.0009	0.71	0.76	0.76
EEM	0.0005	0.150	0.626	0.114	0.569	0.569

^{abc} Literales diferentes dentro de la fila son diferentes ($P < 0.05$); Vm: volumen maximo de gas, s: tasa de producción de gas, Lag: fase lag, DIVMS: digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

Cuadro 5. Estimación de gases efecto invernadero utilizando distintos bloques multinutricionales

	Ración basal	(0:0:0)	(3:0:0)	(3:0.75:0.25)
Peso inicial	16.89	16.89	16.89	16.89
Peso al mercado	45	45	45	45
Días para llegar	209.8	142.0	140.6	130.8
CH ₄ , g/d	133.85	78.80	93.61	101.47
CO ₂ , g/d	531.20	312.79	372.07	331.07

Referencias

- Abdi-Benemar H, Dehghan-Banadaky M, Rezayazdi K, Abdollahi Y (2016). The comparison of the amount of methionine supply by different rumen-protected methionine Sources. *Journal of Agricultural Science and Technology* 18: 1773-1780.
- Aktas, M., Wessel, M., Hacker, S., Klüsener, S., Gleichenhagen, J., & Narberhaus, F. (2010). Phosphatidylcholine biosynthesis and its significance in bacteria interacting with eukaryotic cells. *European journal of cell biology*, 89(12), 888-894.
- Alonso-Mélendez E, Mendoza GD, Castrejón-Pineda FA, Ducoing-Watty AE (2016). Milk production in dairy goats supplemented with different levels of ruminally protected methionine. *Journal of Dairy Research* 83: 148-150.
- An FL, Sun DM, Li RJ, Zhou MM, Yang MH, Yin Y, Kong LY, Luo J (2017). Walrobsins A and B, Two anti-inflammatory limonoids from root barks of Walsura robusta. *Organic letters* 19: 4568-4571.
- AOAC, 1995. *Association of Official Analytical Chemists. Methods of Analysis*. Washington D.C., USA.
- Ardalan M, Rezayazdi K, Dehghan-Banadaky M. (2010). Effect of rumen-protected choline and methionine on physiological and metabolic disorders and reproductive indices of dairy cows. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 94. DOI: 10.1111/j.1439-0396.2009.00966.x
- Awawdeh MS (2016). Rumen-protected methionine and lysine: effects on milk production and plasma amino acids of dairy cows with reference to metabolisable protein status. *Journal of Dairy Research* 83: 151-155.
- Beaty JL, Cochran RC, Lintzenich BA, Vanzant ES, Morrill JL, Brandt RT, Johnson DE (1994). Effect of frequency of supplementation and protein

- concentration in supplements on performance and digestion characteristics of beef cattle consuming low-quality forages. *Journal of Animal Science* 72: 2475-2486.
- Beauchemin KA, Kreuzer M, O'mara F, McAllister TA (2008). Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48: 21-27.
- Blümmel M; Steingaß H, Becker K (1997). The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and 15N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition* 77: 911-921.
- Briceño PEG, Ruiz GA, Chay CAJ, Ayala BAJ, Aguilar PCF, Solorio SFJ, Ku VJC 2012. Voluntary intake, apparent digestibility and prediction of methane production by rumen stoichiometry in sheep fed pods of tropical legumes. *Animal Feed Science and Technology* 176: 17-122.
- Cambra-López M, García-Rebollar P, Estellés F, Torres A (2008). Estimación de las emisiones de los rumiantes en España: El Factor de Conversión de Metano. *Archivos de Zootecnia* 57: 89-101.
- Charmley E, Stephens ML, Kennedy PM (2008). Predicting livestock productivity and methane emissions in northern Australia: development of a bio-economic modelling approach. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48: 109-113.
- Cole LK, Vance JE, Vance DE (2012). Phosphatidylcholine biosynthesis and lipoprotein metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids* 1821: 754-761.
- Dabiri N, Thonney ML (2004). Source and level of supplemental protein for growing lambs. *Journal of animal science* 82: 3237-3244.

- El-Gendy ME, El-Riedy KF, Sakr HS, Gaafar HM (2012). Effect of rumen protected methionine and/or choline additives on productive performance of Zaraibi goats. *Nature and Science* 10: 35-41.
- Esatbeyoglu T, Ulbrich K, Rehberg C, Rohn S, Rimbach G (2015). Thermal stability, antioxidant, and anti-inflammatory activity of curcumin and its degradation product 4-vinyl guaiacol. *Food Functional* 6: 887-893.
- Frankič T, Voljč M, Salobir J, Rezar V (2009). Use of herbs and spices and their extracts in animal nutrition. *Acta agriculturae slovenica* 94: 95-102.
- Getachew G, Makkar HPS, Becker K (2002). Tropical browses: contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. *The Journal of Agricultural Science* 139: 341-352.
- Han Y, Qu Y, Yuan X, Wang Z, Yin X, Li W., Pan Q, Wang G, Gao Y (2016). Effects of Rumen-Protected Methionine and Lysine Supplementation on Growth Performance and Carcass Chemical Composition of Holstein Bulls. *Chinese Journal of Animal Nutrition* 2: 015.
- Hatfield PG, Hopkins JA, Ramsey WS, Gilmore A (1998). Effects of level of protein and type of molasses on digesta kinetics and blood metabolites in sheep. *Small Ruminant Research* 28: 161-170.
- Hernández LAN, Bautista BS, Velázquez del Valle MG (2007). Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30: 119-123.
- Hernández PA, Mendoza GD, Castro A, Lara A, Plata FX, Martínez JA, Ferraro S (2001). Effects of grain level on lamb performance, ruminal metabolism and leptin mRNA expression in perirenal adipose tissue. *Animal Production Science* 57: 2001-2006.
- Hernández-Reyes JC, Lara-Bueno A, Miranda-Romero LA, Mendoza GD, Martínez D. (2017). *Evaluación de Productos Herbales como aditivos en*

raciones de finalización de ovinos. XVIII Congreso Bienal Amena. Puerto Vallarta Jal.

Herrera J.G. y García C. 2010. Bioestadística en Ciencias Veterinarias, Procedimientos de análisis de datos con SAS. Editorial Universidad Complutense de Madrid.

IPCC (2007). Fourth Assessment Report: *Climate Change. Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge.

Kaya I, Unal Y, Sahin T, Elmali D (2009). Effect of different protein levels on fattening performance, digestibility and rumen parameters in finishing lambs. *Journal Animal Veterinary Advances* 8: 309-312.

Keulen V, Young BA. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science* 44: 282-287.

Mao HL, Wang JK, Zhou YY, Liu JX (2010). Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. *Livestock Science* 129: 56-62.

Mendoza GD, Oviedo MF, Pinos JM, Lee-Rangel HA, Vázquez A, Rojo R, Guerrero ML, Pérez F (2018). Milk production in dairy cows supplemented with herbal choline and methionine. In press.

Menke KH, Steingass H (1988). Estimation of the energeticfeed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research Development Journal* 27:7-55.

Myers RH (1971). *Response surface methodology*. Library of Congress. United States of America; p 68.

Nam, I. S., Choi, J. H., Seo, K. M., & Ahn, J. H. (2014). In vitro and lactation responses in mid-lactating dairy cows fed protected amino acids and fat. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 27(12), 1705.

- Niculescu MD, Zeisel SH (2002). Diet, methyl donors and DNA methylation: interactions between dietary folate, methionine and choline. *The Journal of nutrition* 132: 2333S-2335S.
- NRC (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids, First ed. National Research Council, National Academic Science, Washington, DC, USA.: p 292.
- Orskov ER, Flatt WP, Moe PW (1968). Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of volatile fatty acid formation in ruminants. *Journal of Dairy Science* 51: 1429–1435.
- Patton RA (2010). Effect of rumen-protected methionine on feed intake, milk production, true milk protein concentration, and true milk protein yield, and the factors that influence these effects: A meta-analysis. *Journal of dairy science* 93: 2105-2118.
- Rodríguez-Guerrero V, Lizarazo AC, Ferraro S, Suárez N, Miranda LA, Mendoza GD (2018). Effect of herbal choline and rumen-protected methionine on lamb performance and blood metabolites. *South African Journal of Animal Science* 48 DOI 10.4314/sajas.v48i1.16. Accepted Article
- Sall, J, Lehman A, Stephens M, Creighton L (2012). JMP® start statistics: a guide to statistics and data analysis.5th ed. SAS Institute Inc.: Cary, NC.
- Sánchez AE, Ortega CME, Mendoza MGD, Montañez VOD, Buntinx DSE (2012). Rastrojo de maíz tratado con urea y metionina protegida en dietas para ovinos en crecimiento. *Interciencia* 37: 395-399.
- Sinclair KD, Garnsworthy PC, Mann GE, Sinclair LA (2014). Reducing dietary protein in dairy cow diets: Implications for nitrogen utilization, milk production, welfare and fertility. *Animal* 8: 262-274.
- Steel GDR, Torrie JH, Dickey DA (1997). *Principles and procedures of statistics*. A biometrical approach: McGraw-Hill. New York; p 637.

- Tsiplakou E, Mavrommatis A, Kalogeropoulos T, Chatzikonstantinou M, Koutsouli P, Sotirakoglou K, Labrou N, Zervas G (2017). The effect of dietary supplementation with rumen-protected methionine alone or in combination with rumen-protected choline and betaine on sheep milk and antioxidant capacity. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 101: 1004-1013.
- Unal Y, Kaya I, Oncuer A (2005). Use of urea – molasses mineral blocks in lambs fed with straw. *Revue Medicine Veterinaire* 156: 217-220.
- Usman FM, Siddiqui MM, Habib G (2004). Effect urea – molasses block supplementation on nutrient digestibility and intake of ammoniated maize stovers in cow – calves. *Pakistan Veterinary Journal* 24: 13-17.
- Van Soest PJ (1994). *Nutritional ecology of the ruminants*. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press. Ithaca USA and London UK.
- Wolin JM (1960). A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of Dairy Science*. 40: 1452-1459.
- Zom RLG, Van Baal J, Goselink RMA, Bakker JA, De Veth MJ, Van Vuuren AM (2011). Effect of rumen-protected choline on performance, blood metabolites, and hepatic triacylglycerols of periparturient dairy cattle. *Journal of dairy science* 94: 4016-4027.

8. CONCLUSIONES GENERALES

1. Es importante realizar un diagnóstico nutricional del rebaño evaluando los factores que puedan determinar con mayor precisión el estado nutricional de los corderos.
2. Es importante que las raciones cumplan los requerimientos de proteína y energía, pues los bloques pueden ayudar en condiciones limitantes pero no compensan totalmente las deficiencias de las raciones.
3. Con el uso de bloques multinutricionales se mejoró la digestibilidad en un 10.7% sin afectar el consumo con una ración de baja calidad.
4. El nivel de proteína dentro de los bloques es determinante para la respuesta productiva, así como la combinación de diferentes nutrientes orgánicos e inorgánicos.
5. La inclusión de fuentes herbales (lisina, metionina y biocolina) en corderos mejoran el consumo y la ganancia de peso de los corderos, principalmente cuando se incorporan en forma combinada.
6. El fruto de *Caesalpinia coriacea* y el aceite de soya no tuvieron impacto en la productividad de corderos. No se detectaron beneficios *in vivo* al incorporar propionato de calcio.
7. Las emisiones de gas efecto invernadero se pueden reducir con el uso de bloques al disminuir el tiempo de permanencia de crecimiento-engorda de los corderos en las unidades de producción.

9. REFERENCIAS

- Aiello, R.J., Armentano, L.E., Bertics, S.J., Murphy, A.T. 1989. Volatile Fatty Acid Uptake and Propionate Metabolism in Ruminant Hepatocytes1. *Journal of Dairy Science*, 72(4), 942-949.
- Akande, K.E., Doma, U.D., Agu, H.O., Adamu, H.M. 2010. Major antinutrients found in plant protein sources: their effect on nutrition. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9(8), 827-832.
- Akil, M., Bicer, M., Menevse, E., Baltaci, A.K., Mogulkoc, R. 2011. Selenium supplementation prevents lipid peroxidation caused by arduous exercise in rat brain tissue. *Bratislavské lekarske listy*, 112(6), 314-317.
- Ali, C.S., Sharif, M., Nisa, M., Javaid, A., Hashmi, N., Sarwar, M. 2009. Supplementation of ruminally protected proteins and amino acids: feed consumption, digestion and performance of cattle and sheep. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11(4), 477-482.
- Anassori, E., Dalir-Naghadeh, B., Pirmohammadi, R., Taghizadeh, A., Asri-Rezaei, S., Farahmand-Azar, S., Tahmoozi, M. 2012. *In vitro* assessment of the digestibility of forage based sheep diet, supplemented with raw garlic, garlic oil and monensin. In *Veterinary Research Forum* (Vol. 3, No. 1, p. 5). Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
- Anindo, D., Toé F., Tembely S., Mukasa-Mugerwa F., Lahlou-Kassi A. 1998. Effect of molasses urea block (MUB) on dry matter intake, growth, reproductive performance and control of gastrointestinal nematode infection of grazing Menz ramb lambs. *Small Ruminant Research*, 27, 63-71
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. USA. Association of Official Analytical Chemists.
- Apper-Bossard, E., Faverdin, P., Meschy, F., Peyraud, J. L. 2010. Effects of dietary cation-anion difference on ruminal metabolism and blood acid-base regulation

in dairy cows receiving 2 contrasting levels of concentrate in diets. *Journal of dairy science*, 93(9), 4196-4210.

ARC. 1980. The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock. Common wealth Agricultural Bureax, Surrey, UK.

Arce, C.O., Mendoza, M.G., Miranda, R.L., Meneses, M.M., Loera, O. 2013. Efficiency of lignocellulolytic extracts from the thermotolerant strain Fomes sp. EUM1: stability and digestibility of agricultural waste. *Journal Agricultural Science Technology*, 15(2), 229-240.

Ardalan, M., Rezayazdi, K., Dehghan-Banadaky, M. 2010. Effect of rumen-protected choline and methionine on physiological and metabolic disorders and reproductive indices of dairy cows. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 94(6), e259-e265.

Arvizu, R.R., Domínguez, I.A., Rubio, M.S., Bórquez, J.L., Pinos-Rodríguez, J.M., González, M., Jaramillo, G. 2011. Effects of genotype, level of supplementation, and organic chromium on growth performance, carcass, and meat traits grazing lambs. *Meat science*, 88(3), 404-408.

Aye, P.A., Adegun, M.K. 2010. Digestibility and growth in West African dwarf sheep fed Gliricidia-based multinutrient block supplements. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(6), 1133-1139.

Azizi-Shotorkhoft, A., Rezaei, J., Fazaeli, H. 2013. The effect of different levels of molasses on the digestibility, rumen parameters and blood metabolites in sheep fed processed broiler litter. *Animal feed science and technology*, 179(1-4), 69-76.

Bailey, J.D., Ansotegui, R.P., Paterson, J.A., Swenson, C.K., Johnson, A.B. 2001. Effects of supplementing combinations of inorganic and complexed copper on performance and liver mineral status of beef heifers consuming antagonists. *Journal of animal science*, 79(11), 2926-2934.

- Baldi, A, Pinotti L. 2006. Choline metabolism in high-producing dairy cows; metabolic and nutritional basis. *Canadian Journal of Animal Science*, 86, 207-212.
- Balicka-Ramisz, A., Pilarczyk B., Ramisz A., Wieczorek M. 2006. Effect of selenium administration on blood serum content and on selected reproductive characteristics of sheep. *Archiv Tierzucht*, 49, 176-180.
- Bampidis, V.A., Nistor, E., Nitas, D. 2013. Arsenic, cadmium, lead and mercury as undesirable substances in animal feeds. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 46(1), 17-22.
- Bayat, A.R., Kairenus, P., Stefański, T., Leskinen, H., Comtet-Marre, S., Forano, E., Shingfield, K.J. 2015. Effect of camelina oil or live yeasts (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal methane production, rumen fermentation, and milk fatty acid composition in lactating cows fed grass silage diets. *Journal of dairy science*, 98(5), 3166-3181.
- Beauchemin, K.A., McGinn, S.M., Benchaar,C., Holtshausen, L. 2009. Crushed sunflower, flax, or canola seeds in lactating dairy cow diets: Effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. *Journal of Dairy Science*, 92(5), 2118-2127.
- Berthelot, V., Pierzynowski, S.G., Sauvant, D., Kristensen, N.B. 2002. Hepatic metabolism of propionate and methylmalonate in growing lambs. *Livestock Production Science*, 74(1), 33-43.
- Bhanugopan, M.S., Fulkerson, W.J., Hyde, M., Fraser, D.R. 2015. Effect of dietary potassium supplementation on the calcium absorption capacity in the rumen and abomasum and fractional excretion of urinary minerals in sheep. *Animal Production Science*, 55(4), 508-514.

- Bilal, M.Q., Akhtar, P., Ali, S. 2010. Chemical composition, mineral profile, palatability and in vitro digestibility of shrubs. *Pakistan Journal of Botany*, 42(4), 2453-2459.
- Block, E. 1994. Manipulation of Dietary Cation-Anion Difference on Nutritionally Related Production Diseases, Productivity, and Metabolic Responses of Dairy Cows1. *Journal of Dairy Science*, 77(5), 1437-1450.
- Bodas, R., Prieto, N., García-González, R., Andrés, S., Giráldez, F.J., López, S. 2012. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*, 176(1-4), 78-93.
- Bonilla-Cárdenas, J.A., Lemus-Flores, C., Montaño-Gómez, M.F., González-Vizcarra, V.M. Ly-Carmenatti, J. 2012. Ruminal Fermentation, digestibility and methane production in sheep fed with four levels of corn stover. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15, 499-509.
- Briceño-Poot, E.G., Ruiz-González, A.J., Chay-Canul, A.J. Ayala-Burgos, C.F. Aguilar-Pérez, F.J. Solorio-Sánchez, J.C. Ku-Vera. 2012. Voluntary intake, apparent digestibility and prediction of methane production by rumen stoichiometry in sheep fed pods of tropical legumes. *Animal Feed Science and Technology*, 176, 117– 122.
- Brüsemeister, F., Sudekum K.H.. 2006. Rumen-protected choline for dairy cows: the in situ evaluation of a commercial source and literature evaluation of effects on performance and interactions between methionine and choline metabolism. *Animal Research*, 55(2), 93-104.
- Cambrà-López, M. García R.P., Estellés F., Torres A. 2008. Estimación de las emisiones de los rumiantes en España: el factor de conversión de metano. *Archivos de Zootecnia*; 57: 89-101.

Carmona, C.J. Bolívar D.M., Giraldo L.A. 2005. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Ciencias Pecuarias*; 18, 49-63.

Da Rocha, J.F.X., Aires, A.R., Nunes, M.A.G., Flores, E.M.M., Kozloski, G.V., De Vargas, A.C., Do Rego Leal, M.L. 2013. Metabolism, intake, and digestibility of lambs supplemented with organic chromium. *Biological trace element research*, 156(1-3), 130-133.

Davidson, S., Hopkins B.A., Odle J., Brownie C., Fellner V., Whitlow L.W. 2008. Supplementing limited methionine diets with rumen-protected methionine, betaine, and choline in early lactation Holstein cows. *Journal Dairy Science*, 91, 1552-1559.

De D., Singh G.P. 2003. Effect of cold process monensin enriched urea molasses mineral blocks on performance of crossbred calves fed a wheat straw based diet. *Animal Feed Science and Technology*; 103, 51-61.

Díaz, G.C., Hernández G.P.A. 2018. Efecto de la inclusión de menta, clavo, eucalipto y monensina sódica en la fermentación ruminal y la producción de metano *in vivo*. Tesis Universidad Autónoma del Estado de México, Centro Universitario UAEM Amecameca.

Domínguez, V.I.A., González, S.S.M., Pinos, R.J.M., Bórquez, J.L.G, Bárcena, R.G., Mendoza, G.M., Zapata, L.E., Landois, L.L.P. 2009. Effects of feeding selenium-yeast and choromium-yeast to finishing lambs on growth, carcass characteristics, and blood hormones and metabolites. *Animal Feed Science Technology*, 52, 42–49.

Domínguez-Vara, I.A., Huerta-Bravo, M. 2008. Concentración e interrelación mineral en suelo, forraje y suero de ovinos durante dos épocas en el valle de Toluca, México. *Agrociencia*, 42(2), 173-183.

Ducker, M., Kendall, P., Hemingway, R., McClellan, T. 1981. An evaluation of feed blocks as a means of providing supplementary nutrients to ewes grazing upland/hill pastures. *Animal Production*, 33, 51-57.

El Ashry, G.M., Hassan, A.A.M., Soliman, S.M. 2012. Effect of feeding a combination of zinc, manganese and copper methionine chelates of early lactation high producing dairy cow. *Food and Nutrition Sciences*, 3(8), 1084.

FAO. 2006. Ganadería amenaza el medio ambiente. Disponible en : <http://www.fao.org/newsroom/ES/news/2006/1000448/index.html>. Consultado: 21/04/2014.

FAO. 2007. Feed supplementation blocks. Urea-molasses multinutrient blocks: simple and effective feed supplement technology for ruminant agriculture. Animal Production and Health Division 164.

Farningham, D.A.H., Whyte, C.C. 1993. The role of propionate and acetate in the control of food intake in sheep. *British Journal of Nutrition*, 70(1), 37-46.

Fernández, H.T., Catanese, F., Puthod, G., Distel, R.A., Villalba, J.J. 2012. Depression of rumen ammonia and blood urea by quebracho tannin-containing supplements fed after high-nitrogen diets with no evidence of self-regulation of tannin intake by sheep. *Small Ruminant Research*, 105(1), 126-134.

Ferraro, S.M., Mendoza G.D., Miranda L.A., Gutiérrez C.G. 2009. *In vitro* gas production and ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses. *Animal Feed Science Technology*, 154:112-118.

Ferreira, E.M., Pires, A.V., Susin, I., Gentil, R.S., Parente, M.O.M., Nolli, C.P., Ribeiro, C.V.D.M. 2014. Growth, feed intake, carcass characteristics, and

meat fatty acid profile of lambs fed soybean oil partially replaced by fish oil blend. *Animal Feed Science and Technology*, 187, 9-18.

Finkelstein, J.D. 1990. Methionine metabolism in mammals. *The Journal of nutritional biochemistry*, 1(5), 228-237.

Fonty, G., y Chaucheyras-Durand, F. 2006. Efectos y modos de acción de las levaduras vivas en el rumen. *Biología*, 61(6), 741-750.

Formigoni, A., Fustini, M., Archetti, L., Emanuele, S., Sniffen, C., Biagi, G. 2011. Effects of an organic source of copper, manganese and zinc on dairy cattle productive performance, health status and fertility. *Animal feed science and technology*, 164(3-4), 191-198.

Galeta, T., Negesse T., Abebe G. and Goetsch A.L. 2013. Effect of supplementing grazing Arsi-Bale sheep with molasses – urea feed block on weight gain and economic return under famers management condition. *Journal of Cell and Animal Biology*, 7: 125-131.

Galina, M.A., Guerrero M., Puga C., Haenlein G.F.W. 2004. Effect of a slow-intake urea supplementation on growing kids fed corn stubble or alfalfa with a balanced concentrate. *Small Ruminant Research* 53: 29-38.

Gami, R., Thakur, S.S., Mahesh, M.S. 2017. El efecto ahorrador de proteínas del lumen dietético protegió a la lisina más metionina en los búfalos de Murrah (*Bubalus bubalis*). *Actas de la Academia Nacional de Ciencias, India, Sección B: Ciencias Biológicas* , 87 (3), 885-891.

Garg, A.K., Vishal M., Dass, R.S. 2008. Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization and mineral profile in lambs. *Animal Feed Science and Technology*. 144:82-96.

- Geleta, T., Negesse, T., Abebe, G., Goetsch, A.L. 2013. Effect of supplementing grazing Arsi-Bale sheep with molasses-urea feed block on weight gain and economic return under farmers management condition. *Journal of Cell and Animal Biology*, 7(10), 125-131.
- Godínez-Cruz, J., Cifuentes-López O., Cayetano J., Lee-Rangel H., Mendoza G., Vázquez A., Roque A. 2015. Effect of choline inclusion on lamb performance and meat characteristics. *Journal Animal Science*, 93(3), 766.
- Goel, G., Makkar, H.P. 2012. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. *Tropical animal Health and Production*, 44(4), 729-739.
- Hefnawy, A.E.G., Tórtora-Pérez, J.L. 2010. The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health. *Small Ruminant Research*, 89:2-3, 185-192.
- Helmer, L.G., Bartley, E.E. 1971. Progress in the utilization of urea as a protein replacer for ruminants. A Review1. *Journal of Dairy Science*, 54(1), 25-51.
- Hernández-García, P.A., Mendoza-Martínez, G.D., Sánchez, N., Martínez-García, J.A., Plata-Pérez, F.X., Lara-Bueno, A., Ferraro, S.M. 2017. Effects of increasing dietary concentrations of fish oil on lamb performance, ruminal fermentation, and leptin gene expression in perirenal fat. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(6), 521-526.
- IPCC. Fourth Assessment Report: Climate Change. Intergovernmental Panel on Climate Change. 2007. Cambridge University Press, Cambridge.
- Jankowski, J., Kubińska, M., Zduńczyk, Z. 2014. Nutritional and immunomodulatory function of methionine in poultry diets—a review. *Annals of Animal Science*, 14(1), 17-32.
- Johnson, K.A., Johnson D.E. 1995. Methane emissions from cattle. *Journal Animal Science*, 73: 2483-2492.

- Johnston, H., Beasley, L., & MacPherson, N. 2014. Copper toxicity in a New Zealand dairy herd. *Irish Veterinary Journal*, 67,1-20.
- Kawas, J.R., Andrade-Montemayor, H., Lu, C.D. 2010. Strategic nutrient supplementation of free-ranging goats. *Small Ruminant Research*, 89:2-3, 234-243.
- Kayastha, T.B., Dutta S. Roy R.K. 2012. Impact of supplementation of UMMB licks in the ration of dairy animals. VETSCAN, 107-110 p.
- Keyvanlou, M., Aslani M.R., Mohri M., Seifi, H.A. 2011. Evaluación clínica, hematológica y bioquímica de la toxicidad de la cebolla (*Allium cepa*) en cabras. *Revue Méd. Vét*, 162(12), 593-598.
- Kertz, A.F. 2010. Urea feeding to dairy cattle: A historical perspective and review. *The Professional Animal Scientist*, 26(3), 257-272.
- Kioumarsi, H., Yahaya, Z. S., Rahman, A.W. 2011. The effect of molasses/mineral feed blocks along with the use of medicated blocks on haematological and biochemical blood parameters in Boer goats. *Asian Journal Animal Veterinary Advantage*, 6, 1264-1270.
- Kitchalong, L., Fernandez, J.M., Bunting, L.D., Southern, L.L., Bidner, T.D. 1995. Influence of chromium tripicolinate on glucose metabolism and nutrient partitioning in growing lambs. *Journal of Animal Science*, 73, 2694-2705.
- Koenig, K.M., Beauchemin K.A. 2009. Supplementing selenium yeast to diets with adequate concentrations of selenium: Selenium status, thyroid hormone concentrations and passive transfer of immunoglobulins in dairy cows and calves. *The Canadian Veterinary Journal* 89: 111-122.
- Krzyżewski, J., Bagnicka E., Horbańczuk J.O. 2014. The effect of selenium supplementation to the diet of dairy cows and goats on production traits and animal health. A review. *Animal Science Papers and Reports*, 32, 283-299.
- Lanzotti, V. 2006. The analysis of onion and garlic. *Journal of chromatography A*, 1112(1-2), 3-22.

Lao, J. 2002. Efecto de la suplementación de microminerales en el engorde intensivo de bovinos. Tesis Escuela de Post grado. UNALM

Lashof, D.A., Ahuja, D.R. 1990. Relative contributions of greenhouse gas emissions to global warming. *Nature*, 344(6266), 529.

Lee, C., Hristov, A.N., Cassidy, T.W., Heyler, K.S., Lapierre, H., Varga, G.A., Parys, C. 2012. Rumen-protected lysine, methionine, and histidine increase milk protein yield in dairy cows fed a metabolizable protein-deficient diet. *Journal of Dairy Science*, 95(10), 6042-6056.

Lee, H., Mendoza, G.D., González, S. 2012. Effect of calcium propionate and sorghum level on lamb performance. *Animal Feed Science Technology*, 177, 237-241.

Lizarazo, A.C., G.D. Mendoza, J. Kú, L.M. Melgoza, M. Crosby. 2013. Effects of slow-release urea and molasses on ruminal metabolism of lambs fed with low-quality tropical forage. *Small Ruminant Research*, 116(2014), 28–31. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2013.10.009.

Mao, H.L., Wang, J.K., Zhou, Y.Y., Liu, J.X. 2010. Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. *Livestock Science*, 129:1, 56-62.

Mao, H.L., Mao, H.L., Wang, J.K., Liu, J.X., Yoon, I. 2013. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on in vitro fermentation and microbial communities of low-quality forages and mixed diets. *Journal of animal science*, 91(7), 3291-3298.

McDowell, LR. 1994. Mineral supplementation and productive response in ruminants. In: International Symposium on Advances in animal production, 25-27 October, La Molina, Perú. pp. 27-35.

McDowell, L.R., Valle G., Rojas L.X., Velásquez P.J. 1997. Importancia de la suplementación mineral completa en la reproducción de vacas. In: XXXIII Reunión nacional de investigación pecuaria, XXIII Simposium de ganadería

tropical: Interacción nutrición-reproducción en ganado bovino, 3-8 November 1997, Veracruz, México. pp. 31-47.

Mehlhorn, H., Al-Quraishi, S., Al-Rasheid, K. A., Jatzlau, A., Abdel-Ghaffar, F. 2011. Addition of a combination of onion (*Allium cepa*) and coconut (*Cocos nucifera*) to food of sheep stops gastrointestinal helminthic infections. *Parasitology research*, 108(4), 1041-1046.

Mendoza, M.G.D., Hernández G.P.A., Plata P.F.X., Martínez G.J.A. 2014. Engorda intensiva de ovinos con dietas a base de granos. Departamento de Producción Agricola y Animal.

Mendoza, G.D., Plata, F.X., Vázquez, G., Sánchez-Trocino, M., Hernández, P.A., Martínez, J.A. 2017. Ingesta y digestibilidad con bloques nutricionales para ciervos brocked (*Mazama americana* y *Mazama temama*). *Revista Internacional de Investigación Aplicada en Medicina Veterinaria* , 15 (1).

Molano, G., Clark, H. 2008. The effect of level of intake and forage quality on methane production by sheep. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48(2), 219-222.

Moniello, G., Infascelli, F., Pinna, W., Camboni, G. 2005. Mineral requirements of dairy sheep. *Italian Journal of Animal Science*, 4(1), 63-74.

Moreno-Camarena, L., Domínguez-Vara, I., Bórquez-Gastelum, J., Sánchez-Torres, J., Pinos-Rodríguez, J., Mariezcurrena-Berasain, A., Salem, A.Z. 2015. Efectos de la suplementación con cromo orgánico para acabar con la dieta de los corderos en el rendimiento de crecimiento, las características de la canal y la calidad de la carne. *Diario de Agricultura Integrativa* , 14(3), 567-574.

Moss, A.R., Jouany, J.P., Newbold, J. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. In *Annales de zootechnie*. 49(3), 231-253.

Muralidharan, J., Thiruvenkadan, A.K., Saravanakumar, V.R. 2016. Effect of concentrate and urea molasses mineral block (UMMB) supplementation on

the growth and feed consumption of Mecheri lambs under intensive rearing. *Indian Journal of Animal Research*, 50(3), 382-386.

- NRC (National Research Council). Nutrient requirements of small ruminants. 2007. Animal nutrition series. The National Academic Press. Washington, D.C.
- Oba, M., Oakley, A.E., Tremblay, G.F. 2011. Dietary Ca concentration to minimize the risk of hypocalcaemia in dairy cows is affected by the dietary cation–anion difference. *Animal Feed Science and Technology*, 164(3-4), 147-153.
- O'Rourke, D. 2009. Nutrition and udder health in dairy cows: A review. *Irish Journal Veterinary*, 62, 15-20.
- Orskov, E.R., Flatt, W.P., Moe, P.W. 1968. Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of volatile fatty acid formation in ruminants. *Journal of Dairy Science*, 51, 1429–1435.
- Osorio, T.A., Mendoza G.D., Miranda L.A., Martínez D., Hernández P., Martinez J.A. 2017. Effect of calcium propionate and monensin on in vitro digestibility and gas production. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(4), 348-353.
- Overton, T.R., Yasui T. 2014. Practical applications of trace minerals for dairy cattle. *Journal Animal Science*, 92, 416-426.
- Paiva, P.M.G., Gomes, F.S., Napoleão, T.H., Sá, R.A., Correia, M.T.S. Coelho, L.C.B.B. 2010. Actividad antimicrobiana de metabolitos secundarios y lectinas de plantas. Temas actuales de investigación, tecnología y educación en microbiología aplicada y biotecnología microbiana, 1, 396-406.
- Pen, B., Sar, C., Mwenya, B., Kuwaki, K., Morikawa, R., Takahashi, J. 2006. Effects of extracts of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* on ruminal fermentation in vitro and methane emission. *Science and Technology of Animal Feed*, 129(3-4), 175-186.
- Pinos-Rodríguez, J.M., López, M.G., García-López, J.C., Aguirre-Rivera, J.R., Mellado, M. 2011. Effects of urea-prickly pear-molasses block supplementation on growth and milk production of crossbred goats on arid rangelands. *Journal of Applied Animal Research*, 39(2), 117-119.

- Reséndiz-Hernández, M, Bárcena-Gama J.R., Crosby-Galván M.M., Cobos M., Herrera-Haro J., Hernández-García P.A., Carreón-Luna L. 2012. Effect of organic selenium and chromiuun and *Saccharomyces cerevisiae* on in situ diet degradation, rumen fermentation and growth performance of lambs. *Agrociencia*, 46, 745-755.
- Rira, M., Morgavi, D.P., Archimède, H., Marie-Magdeleine, C., Popova, M., Bousseboua, H., Doreau, M. 2015. Potential of tannin-rich plants for modulating ruminal microbes and ruminal fermentation in sheep. *Journal of animal science*, 93(1), 334-347
- Robinson, P.H. 2010. Impacts of manipulating ration metabolizable lysine and methionine levels on the performance of lactating dairy cows: A systematic review of the literature. *Livestock Science*, 127(2-3), 115-126.
- Rodríguez-Acosta, L.C., Mendoza Martínez, G.D., Mota Solis, N., Osorio Terán, A. I., Lee Rangel, H., Hernández García, P.A. 2011. Efecto del selenio y cromo orgánicos sobre el comportamiento de ovinos en finalización: nota técnica. *Revista Científica*, 21(2).
- Rodríguez, A.L.C., Mendoza, G.D.M., Mota, N.S., Osorio, A.I., Lee, H.R., Hernández, G.P.A. 2011. Efecto del selenio y cromo orgánicos sobre el comportamiento de ovinos en finalización. *Revista Científica*, FCV-LUZ, 20, 152–155.
- Rodríguez-Guerrero, V., Lizarazo, A.C., Ferraro, S., Suárez, N., Miranda, L.A., Mendoza, G.D. 2018. Effect of herbal choline and rumen-protected methionine on lamb performance and blood metabolites. *South African Journal of Animal Science*, 48(3), 427-434.
- Rudolf, E., Cervinka M. 2005. The role of biomembranes in chromium (III)-induced toxicity *in vitro*. *Alternatives to Laboratory Animals*. 33: 249-259.

Salem, H.B., Nefzaoui A. 2003. Feed blocks as alternative supplements for sheep and goats. *Small Ruminant Research*; 49: 275-288.

Salem, H.B., Makkar, H.P.S., Nefzaoui, A., Hassayoun, L., Abidi, S. 2005. Benefit from the association of small amounts of tannin-rich shrub foliage (*Acacia cyanophylla Lindl.*) with soya bean meal given as supplements to Barbarine sheep fed on oaten hay. *Animal Feed Science and Technology*, 122(1-2), 173-186.

Salinas, J.C., Yado P.R. Lerma D.E.C. 1997. Nutrición animal básica. Universidad Autónoma de Tamaulipas; pp 185.

Sánchez-Acosta, E., Ortega Cerrilla, M.E., Mendoza Martínez, G.D., Montañez Valdez, O.D., Buntinx D.S.E. 2012. Rastrojo de maíz tratado con urea y metionina protegida en dietas para ovinos en crecimiento. *Interciencia*, 37(5).

Sarwar, M., Shahzad, M.A., Nisa, M.U. 2007. Nutrient intake, acid base status and growth performance of Thalli lambs fed varying level of dietary cation-anion difference. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 20(11), 1713-1720.

Savoini, G., Agazzi, A., Invernizzi, G., Cattaneo, D., Pinotti, L., y Baldi, A. 2010. Polyunsaturated fatty acids and choline in dairy goat nutrition: benefits for production and health. *Research of Small Ruminants*, 88(2-3), 135-144.

Shahsavari, A., Michael, J.D., Al Jassim, R. 2016. The role of rumen-protected choline in hepatic function and performance of transition dairy cows. *British Journal of Nutrition*, 116(1), 35-44.

Sherman, L.C., Yadav, P.S., Mandal, A.B., Sunaria, K.R. 2004. Effect of varying levels of dietary minerals on growth and nutrient utilization in lambs. *Asian Austral Journal Animal Science*, 17:46–52.

Silvestre, F.T., Rutigliano H.M., Thatcher W.W., Santos J.E.P., Staples Ch.R.. 2007. Effect of selenium source on production, reproduction, and immunity of lactating dairy cows. January 30-31, Florida Ruminant Nutrition Symposium, Best Western Gateway Grand, Gainesville, FL.

Soto, C.R., Martínez R.R.D. 2001. Utilización de bloques de melaza y urea en la engorda intensiva de becerros criollos. *Archive Latinoamerican Production* 9, 99-103.

Sousa, I.K.F.D., Hamad Minervino, A.H., Sousa, R.D.S., Chaves, D.F., Soares, H.S., Barros, I.D.O., Ortolani, E.L. 2012. Deficiencia de cobre en ovinos con alta acumulación de hierro hepático. *Veterinaria internacional*, 2012 .

Souza, M.A., Detmann, E., Paulino, M.F., Sampaio, C.B., Lazzarini, I., Valadares Filho, S.C. 2010. Intake, digestibility and rumen dynamics of neutral detergent fibre in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogen and/or starch. *Tropical Animal Health and Production*, 42(6), 1299-1310.

Spears, J.W. 2010. Chromium supplementation in cattle Diets. Department of Animal Science North Carolina State University.
Dairy.ifas.ufl.edu/rns/2010/13-Spears.pdf

Šustala, M., Třináctý J., Illek J., Kudrna V., Šustová K.. 2003. Effects of short-term supplementation of dairy cow diets with surplus selenium and rapeseed meal on milk and blood selenium levels. *Czech Journal of Animal Science*, 48(6), 223–231.

Suttle, N.F., Jones D.G.. 1989. Recent developments in trace element metabolism and function: trace elements, disease resistance and immune responsiveness in ruminants. *The Journal of Nutrition*, 119(7), 1055-1061.

Swanepoel, N., Robinson, P.H., Erasmus, L.J. 2010. Amino acid needs of lactating dairy cows: Impact of feeding lysine in a ruminally protected form on productivity of lactating dairy cows. *Animal feed science and technology*, 157(1-2), 79-94.

Toppo, S.; Verma, A.K.; Dass, R.S.; Mehra, U.R. 1997. Nutrient utilization and rumen fermentation pattern in crossbred cattle fed different planes of nutrition

supplemented with urea molasses mineral block. *Animal Feed Science and Technology*. 64: 101-112.

Toral, P.G., Frutos, P., Hervás, G., Gómez-Cortés, P., Juárez, M., De la Fuente, M. A. 2010. Changes in milk fatty acid profile and animal performance in response to fish oil supplementation, alone or in combination with sunflower oil, in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 93(4), 1604-1615.

Tripathi, M.K., Karim, S.A. 2011. Effect of yeast cultures supplementation on live weight change, rumen fermentation, ciliate protozoa population, microbial hydrolytic enzymes status and slaughtering performance of growing lamb. *Livestock Science*, 135(1), 17-25.

Unal, Y., Kaya I., Oncuer A. 2005. Use of urea – molasses mineral blocks in lambs fed with straw. *Revue Medicine Veterinary*; 156:217-220.

Usman, F.M., Siddiqui M.M., Habib G. 2004. Effect urea–molasses block supplementation on nutrient digestibility and intake of ammoniated maize stovers in cow – calves. *Pakistan Veterinary Journal*; 24 (1), 13-17.

Van Soest, P.J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminants*. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press. Ithaca USA and London UK.

Vasta, V., Luciano, G. 2011. The effects of dietary consumption of plants secondary compounds on small ruminants' products quality. *Small Ruminant Research*, 101(1-3), 150-159.

Vázquez-Armijo J.F., J.J. Martínez-Tinajero, D. López, A.F. Salem, R. Rojo. 2011. In vitro gas production and dry matter degradability of diets consumed by goats with or without copper and zinc supplementation. *Biology Trace Element Research*, 144(1-3), 580-587.

Vazquez-Mendoza, P., Castelán-Ortega, O.A., García-Martínez, A., Avilés-Nova, F. 2012. Uso de bloques nutricionales como complemento para ovinos en el

trópico seco del altiplano central de México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15(1).

Villalba, J.J., Provenza, F.D., Hall, J.O., Lisonbee, L.D. 2010. Selection of tannins by sheep in response to gastrointestinal nematode infection. *Journal of Animal Science*, 88(6), 2189-2198.

Wadhwa, M., Bakshi, M.P.S. 2014. Nutritional evaluation of urea molasses multi-nutrient blocks containing agro-industrial wastes in buffaloes. *Indian Journal of Animal Sciences*, 84(5), 544-548.

Wanapat, M., Kang, S., Polyorach, S. 2013. Development of feeding systems and strategies of supplementation to enhance rumen fermentation and ruminant production in the tropics. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 4(1), 32.

Wilkens, M.R., Praechter, C., Breves, G., Schröder, B. 2016. Stimulating effects of a diet negative in dietary cation–anion difference on calcium absorption from the rumen in sheep. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 100(1), 156-166.

Wolin, J.M. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *Journal Dairy Science*, 40: 1452-1459.

Wu, Y. Hu W., Liu J. 2005. Effects of supplementary urea-minerals lick block on the kinetics of fibre digestion, nutrient digestibility and nitrogen utilization of low quality roughages. *Journal of Zhejiang Science*, 6(8), 793-797.

Xun, W., Shi, L., Yue, W., Zhang, C., Ren, Y., Liu, Q. 2012. Effect of high-dose nano-selenium and selenium–yeast on feed digestibility, rumen fermentation, and purine derivatives in sheep. *Biological trace element research*, 150(1-3), 130-136.

Yisehak, K., Becker, A., Rothman, J M., Dierenfeld, E S., Marescau, B., Bosch, G., Janssens, G.P.J. 2012. Amino acid profile of salivary proteins and plasmatic

trace mineral response to dietary condensed tannins in free-ranging zebu cattle (*Bos indicus*) as a marker of habitat degradation. *Livestock Science*, 144(3), 275-280.

Zeisel, S.H., Da Costa K.A. 2009. Choline: An Essential Nutrient for Public Health. *Nutrition Reviews*, Vol. 67, No. 11, (November 2009), pp. 615–623, ISSN 0029- 6643

Zhu, X., Jiao, J., Zhou, C., Tang, S., Wang, M., Kang, J., Tan, Z. 2018. Effects of dietary supplements of methionine and lysine on nutrient digestion, serum parameters and mRNA expression of genes for detection and transport of related amino acids in growing goats. *Research of Small Ruminants*, 166, 1-6.

Research Article

Effect of *Caesalpinia coriaria* Fruits and Soybean Oil on Finishing Lamb Performance and Meat Characteristics

Nallely Sánchez,¹ Germán David Mendoza¹, José Antonio Martínez¹,
Pedro Abel Hernández², Luis Miguel Camacho Diaz,³ Hector Aarón Lee-Rangel⁴,
Anayeli Vazquez,⁴ and Rogelio Flores Ramirez⁵

¹Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, 04970 Ciudad de México, Mexico

²Centro Universitario UAEM Amecameca, Universidad Autónoma del Estado de México, 56900 Toluca, MEX, Mexico

³Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Guerrero, Chilpancingo, GRO, Mexico

⁴Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, km. 14.5 Carr. San Luis Potosí-Matehuala, 78321 San Luis Potosí, SLP, Mexico

⁵CIACYT, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 78000 San Luis Potosí, SLP, Mexico

Correspondence should be addressed to Hector Aarón Lee-Rangel; leehec@hotmail.com

Received 20 September 2017; Accepted 18 January 2018; Published 21 February 2018

Academic Editor: Adolfo Paz

Copyright © 2018 Nallely Sánchez et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

To evaluate phenolic compounds and whether the combination of a tanniferous fruit and soybean oil could improve the performance, meat characteristics, and fatty acid (FA) profile in lambs, an experiment was conducted over 40 days with twenty creole male lambs (23.71 ± 3.46 kg). The lambs were allotted in a completely randomised design, with factorial arrangement 2×2 , with the following dietary treatments: (1) control diet, (2) 2% *Caesalpinia coriaria* ground fruit dry matter (DM), (3) 2% soybean oil DM, and (4) 2% *Caesalpinia coriaria* fruit plus 2% soybean oil. The concentration of condensed tannins (CT) in *Caesalpinia coriacea* was 21.71 g/kg DM. No interactions were detected ($P > 0.05$) among soybean oil and *Caesalpinia coriaria*, and there were no differences in daily gain, intake, and feed conversion. Soybean oil reduced ($P < 0.05$) DM digestibility (68.05 versus 59.56%). In fat from the *longissimus thoracis et lumborum* (LTL) muscle, only linoleic acid presented differences ($P < 0.05$) between treatments. The combination of *Caesalpinia coriacea* fruit and soybean oil did not improve lamb performance at the included levels.

1. Introduction

There is interest in the study of local plants and to develop extracts that contain secondary compounds (condensed tannins and saponins) that, in addition to their potential to reduce methane emissions, have nutraceutical effects for ruminants [1] and many metabolites with antioxidant properties [2]. Besides it is possible that some phytochemicals promote the synthesis of conjugated linoleic acid, which would have beneficial effects on the consumer due to its nutraceutical effects (cardiovascular, anticancer, neuroprotective, antiosteoporotic, anti-inflammatory, and antioxidant) in humans [3].

The inclusion of plants with condensed tannins (CT) in low or moderate levels in ruminant diets has demonstrated

beneficial effects on lamb performance because the reduction in ruminal protein degradation improves the amino acid supply to the small intestine [4, 5]. Tannins may also reduce losses of methane, and this could increase ME for growth; *in vitro* studies have shown that increasing graded levels of tannin-containing tropical tree leaves result in a linear reduction in methane concentration [6]. Other benefits from tannin supplementation in lamb rations are a higher deposition of Trans C18:1 and C18:2 n-6 in lamb muscle [7].

Vegetable oils are of interest in ruminant feeding since they can reduce methane emissions [8] but there are few evaluations in combination with plants rich in phytochemicals. In an experiment with feedlot lambs with increasing levels of a tanniferous bush and vegetable oils (soybean oil and linseed oil 2 : 1), there were no reports of interactions or

TABLE 1: Experimental diets and chemical composition.

	Control	<i>Caesalpinia coriaria</i>	Soybean oil	<i>C. coriaria</i> + soybean oil
Ingredients (as fed basis, %)				
Sorghum grain	19.608	19.608	19.608	19.231
Corn grain	34.804	34.804	34.804	34.135
Soybean meal 46% CP	3.922	3.922	3.922	3.846
Molasses sugar cane	11.765	9.804	9.804	9.615
Rice polish	8.824	8.824	8.824	8.654
Soybean hulls	5.882	5.882	5.882	5.769
Urea	0.980	0.980	0.980	0.962
Canola meal	3.431	3.431	3.431	3.365
Corn gluten meal	1.961	1.961	1.961	1.923
Wheat bran	3.922	3.922	3.922	3.846
Calcium carbonate	1.471	1.471	1.471	1.442
Mineral premix ¹	0.980	0.980	0.980	0.962
Sodium bicarbonate	0.980	0.980	0.980	0.962
Sodium chloride	0.490	0.490	0.490	0.481
Inert fat	0.980	0.941	0.941	0.808
<i>Caesalpinia coriaria</i>	-	2.000	-	2.000
Soybean oil	-	-	2.000	2.000
Total	100.000	100.000	100.000	100.000
Nutrient content				
DM%	94.910	94.750	94.690	94.530
Ash%	8.990	9.460	8.900	9.370
Ether extract%	3.940	5.675	3.241	5.577
Crude protein%	14.604	13.961	14.327	13.944
NDF%	29.739	30.150	28.953	30.489
ADF%	14.665	15.255	14.319	15.252

¹NaCl 3000 g, Co 75 mg, Cu 5,000 mg, Cr 200 ppb, P 40 g, Fe 30,000 mg, Mn 2,000 mg, Se 100 mg, I 125 mg, Zn 10,500 mg, vitamin A 6,800,000 IU, vitamin D 630,000 IU, and vitamin E 16,500 IU.

effects on growth; even at levels of 80 g/kg of oil, intake was depressed. However, oil supplementation increased total n-3 polyunsaturated fatty acids in meat, improving nutritional value [9]. The inclusion of soybean oil in lamb finishing diets at 60 g/kg did not affect the feedlot performance of lambs [10]. Soybean oil has been reported to have an inhibitory effect on methane production when included at 30 g/kg, affecting methanogenic bacteria and rumen protozoa in lambs [11].

The effects of different tanniferous plants on polyunsaturated fatty acids (FA) in meat indicate that not all condensed tannins have the same effect on ruminal biohydrogenation [12] of dietary fatty acids (FA) as linoleic acid, which improves the rise of trans-11 18:1 (VA, vaccenic acid) in the rumen and thus the content in meat products. Therefore, different plants need to be evaluated to identify those that induce beneficial effects in lamb performance and meat quality. The leaves of *Caesalpinia coriaria* have a very rich tannin content with moderate antibacterial activity against pathogen bacteria [13], and some tropical fruit tree species contain tannins in substantial concentrations [14, 15]; therefore, it was hypothesised that the inclusion of dehydrated fruits with tannins in ruminant diets at lower levels may show the beneficial effects of condensed tannins. An experiment was designed to evaluate whether the inclusion of *Caesalpinia*

coriaria fruit, with or without soybean oil, in feedlot rations could improve lamb performance, meat quality, and long-chain fatty acid deposition in muscle.

2. Materials and Methods

The Animal Care and Use Committee of the Doctorate Program in Animal and Agricultural Sciences from the Universidad Autónoma Metropolitana Campus Xochimilco approved the procedures.

Twenty male hair crossed lambs (23.71 ± 3.46 kg) were randomly assigned to one of four treatments ($n = 5$ lambs/treatment): (1) control diet, (2) 2% *Caesalpinia coriaria* dehydrated ground fruit DM, (3) 2% soybean oil DM, and (4) 2% *Caesalpinia coriaria* fruit and 2% soybean oil. The lambs were housed in individual crates, and feed was provided at 08:00 and 15:00 h. The lambs were adapted to the experimental diets (Table 1) for 10 days, and the experiment lasted 40 days. All lambs had free access to feed, ensuring 100 g orts per kg of the amount fed daily.

The fruits of *Caesalpinia coriaria* were collected in February 2014 in the Pungarabato municipality of Mexico. The fruits were mixed and dried in the shade for 15 days, and, then, the whole fruit (containing the peel and seed) was ground in

a hammermill containing a screen size of 4 mm. Other feeds from the ration were ground with a 2.0 cm screen and mixed in a grinder-mixer (Vigusa, Mexico) to offer experimental rations as total mixed rations.

Daily samples of the feed and orts were collected and combined every 14 days. The dry matter and nitrogen in the diets were analysed according to the AOAC [16]. Neutral detergent fibre (NDF) and acid detergent fibre (ADF) analyses were conducted with a detergent system [17]. Fecal samples were collected every 4 days [18] up to day 30 of the experimental period to estimate apparent dry matter digestion. Feed and orts were collected daily during the same period. Acid-insoluble Ash was used on samples as an internal marker to estimate DM and NDF digestibility [19].

The evaluated variables were daily feed intake, average daily gain (ADG), feed conversion ratio, *longissimus thoracis et lumborum* (LTL) muscle area, and meat characteristics. The muscle area from *longissimus dorsi* was assessed one day before slaughter (day 39) by ultrasonography [20]. After slaughter, muscle samples (5 g) of the left side loin (*longissimus thoracis et lumborum* (LTL)) were collected and stored in a freezer (-20°C) until analyses were performed. To measure Warner-Bratzler shear force, 2.5 cm thick steaks were cooked at 70°C, using a model 1132 Instron Universal Testing Machine (Instron, Canton, MA) with a Warner-Bratzler attachment [21]. Color was measured 24 h after slaughter in fresh cuts of the loin samples using a Minolta CM-2006d spectrophotometer (Konica Minolta Holdings, Inc., Osaka, Japan). The lightness (L^*), redness (a^*), and yellowness (b^*) were recorded [22].

In the dehydrated fruit of *Caesalpinia coriaria*, total condensed tannins (TCTs) were assayed using the butanol-HCl method [23], with *Lysiloma acapulcensis* being used as an internal standard [24]. Analyses of the free (free-CT), protein-bound (PCT) and fibre-bound (FCT) condensed tannins were conducted according to the method of Porter et al. [25]. The purification was performed with Sephadex LH-20 [26, 27].

Lipids for fatty acid analysis were extracted from 500 mg of muscle and analysed in a sample obtained from the area between the 11th and 12th ribs (2.5 cm²) using 2:1(vol/vol) chloroform-methanol [28]. A total of 10–20 mg of extracted lipid was derivatized using 1:4(vol/vol) tetramethylguanidine and methanol [29]. Fatty acid profiles were determined by chromatography on a Supelco-2560, 100 m · 0.25 mm 0.20 mm column (Sigma Aldrich Canada, Oakville, ON, Canada) installed in a gas chromatograph (Agilent 6890, Agilent United States, Santa Clara, CA, USA) by flame ionization detection and splitless injection. Fatty acids from the muscle samples were identified by comparison with retention times of known standards (Sigma Aldrich Canada).

The results were analysed according to a completely randomised design with a 2 × 2 factorial arrangement, and the means were compared with the Tukey test [30].

3. Results and Discussion

The contents of total tannins, tannins bound as fractions, and condensed tannins in the fruit are presented in Table 2,

TABLE 2: Tannin content in *Caesalpinia coriacea* fruit.

Condensed tannins g/kg	21.71
Bounded to protein g/kg	3.17
Bounded to fibre g/kg	7.18
Total tannins g/kg	32.06

showing a high proportion of those bound to fibre and low proportion of those bound to the protein fraction. Most of the studies with tanniferous plants have been focused on the leaves, so there are little data for fruits such as *Crescentia alata* and *Guazuma ulmifolia* [15], perhaps because the intake of fruits by small ruminants in the field is limited due to the large size and hardness of the fruit, which require that mature fruit be collected [16], dehydrated, and ground to be included in the diet.

Even though *Caesalpinia coriaria* leaves have been considered rich in tannin content [13–31], the total CT in the fruit is lower compared to that found in plants consumed by goats in dry tropics where values range from 78 g/kg to 174 g/kg DM [32]. The CT in the fruit (*Caesalpinia coriaria*) is lower than the mean of tropical plants with a high tannin content of 30 g/kg DM [33] but can be considered similar to *Lotus corniculatus*, a legume adapted to acid soils with 23 g/kg condensed tannins [34]. However, the CT (21.71 g/kg) is higher than other tree tropical fruits with concentrations reported of 11.9 and 12.0 g/kg CT [15].

The proportion of tannins bound to fibre or protein in *Caesalpinia coriaria* fruit is relatively low when compared to tropical plants consumed by goats [32]. It has been shown that the condensed tannins have antimethanogenic effects, but the biological importance of different fractions has not been fully elucidated. Plants containing both hydrolysable plus condensed tannins were more effective in reducing the total in vitro gas and methane production than those containing only hydrolysable tannins [35].

No interactions were detected among soybean oil and *Caesalpinia coriaria* fruit; the main effects are presented (Table 3). There were no differences in most of the lamb performance variables; however, soybean oil reduced ($P < 0.05$) NDF digestibility (68.05 versus 59.56% and tended ($P = 0.15$) to reduce DM digestibility 84.08 versus 81.21%). DM and NDF digestibility were highly correlated ($r = 0.96$; $P < 0.0001$). Most of the loin meat characteristics were not affected by treatments.

Several studies agree that lamb performance is not improved with soybean oil or with plants rich in condensed tannins. Abdalla et al. [33] found that the addition of soybean oil at 1.8% and 3% in the diet did not affect lamb performance. Dávila-Ramírez et al. [10] reported similar results in body weight gain, feed intake, and feed efficiency with 6% soybean oil. Others with 2% [36] or 3% [11] soybean did not find a response in lamb performance, even when methane emission was reduced in this last study. In one experiment, when *Crescentia alata* and *Guazuma ulmifolia* fruits were offered ad libitum, the intake of *Crescentia alata* was minimal (48 g/d) compared to the *Guazuma ulmifolia* fruit (686 g/d), which severely affected daily gain in lambs (81 versus 4 g/d) [14]. In

TABLE 3: Main effects of *Caesalpinia coriaria* fruit and soybean oil on lamb performance and digestibility.

	Control	<i>Caesalpinia coriaria</i>	Soybean oil	<i>C. coriaria</i> + soybean oil	SEM
Initial BW kg	23.95	23.48	23.46	23.97	1.777
Final BW kg	35.64	35.53	34.74	36.43	1.490
DM intake kg/d	1.254	1.300	1.249	1.305	0.035
ADG kg	0.292	0.301	0.282	0.311	0.016
Feed conversion	4.44	4.42	4.59	4.26	0.252
DM digestibility%	84.08	81.21	83.36	81.93	2.180
NDF digestibility%	68.05 ^a	59.56 ^b	66.09 ^a	61.52 ^b	0.775
Ruminal pH	5.05	5.64	5.67	5.02	0.407
LTL area cm ²	841.1	980.6	957.0	864.7	75.46
Color characteristics					
<i>L</i>	37.02	36.74	36.07	37.69	0.548
<i>a</i>	20.78	19.63	20.45	19.96	0.616
<i>b</i>	6.96 ^{ab}	6.64 ^{ab}	5.86 ^b	7.73 ^a	0.456
WBSF kg/cm ²	785.58	687.94	783.94	689.58	80.11

^{a,b,ab} Means with different superscript within main effect are different ($P < 0.05$); *L*, lightness; *a*, redness; *b*, yellowness; WBSF: Warner-Bratzler shear force.

other experiments with fixed leaf ratios of *Crescentia alata* and *Guazuma ulmifolia* fruits (15 and 30%), daily gain and feed conversion were not affected, and only intake was higher with 30% of *C. alata* [15].

The dietary concentration of CT in this experiment (0.42 g/kg DM) was lower compared to other studies; the experiment with lamb rations including fruits [15] with concentrations from 1.7 to 3.6 g/kg and daily gain was similar to the control diet, while, in other experiments with higher concentration silages (32 and 62 g/kg DM), the daily gain was reduced at the highest concentrations. The study [5] included *Glycyrrhiza glabra* leaves in lambs with a dietary concentration of 4 g/kg of DM and found a positive response only when PEG associated with the protein.

In another experiment, dietary levels of condensed tannins of 5, 10, and 20 g/kg DM dietary *Cistus ladanifer* combined with a vegetable oil blend (0, 4 and 8%) were evaluated; there were no changes in weight gain by condensed tannins, but oil intake was reduced [9], as observed in our experiment.

Soybean oil may affect protozoa and methanogens; Mao et al. [11] found that the protozoa population was reduced to approximately 52% and methanogens to 41% in lambs fed a diet with soybean oil. This is confirmed in other studies where animals fed a rumen-protected fat diet show larger numbers of protozoa than those supplemented with soybean oil [37].

The effects of substrates containing tannins on ruminal fermentation are desirable if they do not alter VFA concentration and decrease both ammonia N and methane production [6]. The beneficial effects of condensed tannins in moderate dietary concentrations (20–40 g/kg DM) are associated with the improvement of amino acid supply to the small intestine [4] or by the protein sparing effect [5].

In this experiment, only the yellowness was higher with *Caesalpinia coriaria* at 2% ($P < 0.05$) in the diet. This

may be an indicator that tannins could protect against oxidation. However, in other studies, color and shear force values of meat were not affected by the inclusion of plants with condensed tannins [9] or by dietary soybean oil [9–38]. Przywitowski et al. [39] found that diets containing 0.76 and 7.84 g/kg of tannins have positive results on color parameters of turkey meat (*a*, *b* and *L*). Tannin-rich extract could create a darker color and decrease yellowness values in the meat of lambs Luciano et al. [40]. Likewise, Du et al. [41] observed some changes in redness for dietary sorghum with a high tannin content diet; the phenolic compounds such as tannins might improve the color stability of broiler meat during storage [39].

Regarding the changes in long-chain fatty acids, only linoleic acid showed significative differences ($P < 0.05$; Table 4). Several natural phytochemicals and antioxidants, primarily phenolic compounds such as tannins, are also known to exert modulatory effects on lipids in ruminants [42] by decreasing cholesterol levels and altering the FA profile of meat. Vasta et al. [7] reported the concentration of PUFA longissimus muscle from lambs fed the tannin-containing diets (4% condensed tannins). Similar to our results, Min et al. [43] observed changes in C18:2n-6 in growing goats fed with different levels of tannins, but they increased 18:1 n-7c, 18:1 n-7t, 18:2 n-6c, 18:3 n-3, and 20:2 n-6 compared to the control diet.

Possibly, the higher secretion of C18:In9t and 18:In9c with soybean oil could be due to partial biohydrogenation of dietary cis-9 C18:1 to C18:0 followed by its desaturation by stearoyl-CoA desaturase and due to partial protection of soybean oil cis-9 C18:1 from ruminal biohydrogenation [44]. Tannin-containing diets reduce ruminal biohydrogenation. This implies that tannin supplementation could be a useful strategy to increase rumenic acid and polyunsaturated fatty acid concentration and decrease the saturated fatty acids in lamb meat [43].

TABLE 4: Main effects of *Caesalpinia coriaria* fruit and soybean oil on fatty acids composition of muscle lipids.

	Control	<i>Caesalpinia coriaria</i>	Soybean oil	<i>C. coriaria</i> + soybean oil	SEM
C14:0	3.78	4.14	4.14	3.64	0.94
C14:1-9	0.14	0.28	0.75	0.23	0.12
C16:0	29.17	25.08	30.15	28.73	4.21
C16:1	3.69	5.05	4.44	3.26	1.43
C18:0	21.44	22.39	15.88	17.84	5.25
C18:1	0.24	0.33	0.46	0.42	0.11
C18:2n-6	4.12 ^{ab}	0.46 ^b	4.67 ^a	2.35 ^{ab}	0.82
C18:3n	0.15	0.11	0.25	0.15	0.55

^{a,b,ab} Means with different superscript within main effect are different ($P < 0.05$).

4. Conclusion

The inclusion of 2% *Caesalpinia coriaria* fruits, 2% soybean oil dry matter, or their combination does not improve lamb performance in finishing lamb rations, although it could affect long-chain fatty acids in lamb meat.

Conflicts of Interest

The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication of this paper.

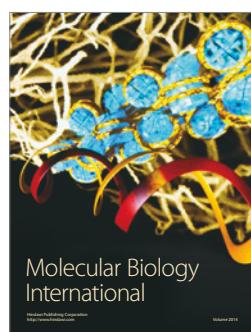
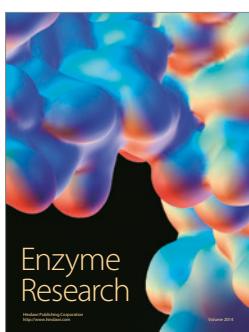
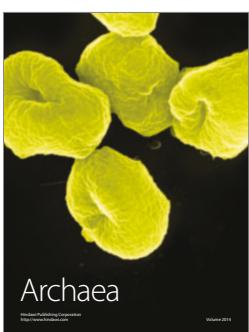
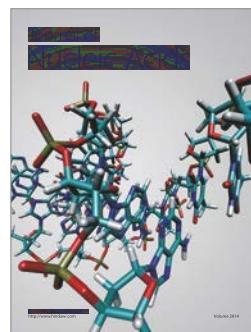
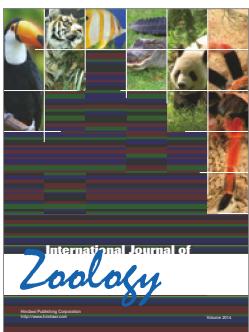
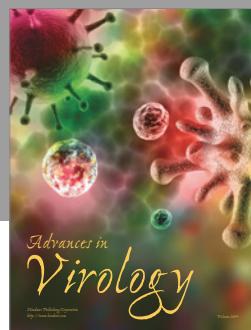
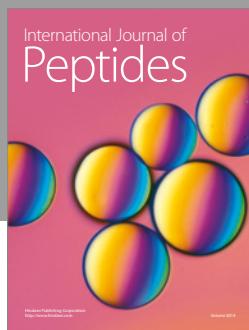
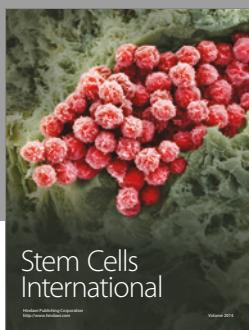
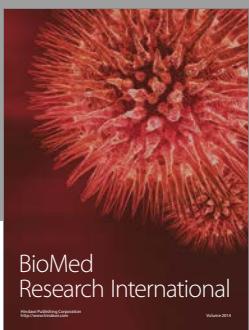
Acknowledgments

The first author acknowledges the National Council for Science and Technology (CONACyT, Mexico) for his doctoral fellowship. The authors acknowledge financial support to Programa para el Desarrollo Profesional Docente, para el Tipo Superior (PRODEP), and PROFIDES SEP.

References

- [1] C. García-Hernández, J. Arece-García, R. Rojo-Rubio et al., "Nutraceutic effect of free condensed tannins of *Lysiloma acapulcensis* (Kunth) benth on parasite infection and performance of Pelibuey sheep," *Tropical Animal Health and Production*, vol. 49, no. 1, pp. 55–61, 2017.
- [2] R. Premanath and N. Lakshmidevi, "Studies on anti-oxidant activity of *Tinospora cordifolia* (Miers.) leaves using in vitro models," *Journal of American Science*, vol. 6, no. 10, pp. 736–743, 2010.
- [3] K.-B. Kim, Y. A. Nam, H. S. Kim, A. W. Hayes, and B.-M. Lee, " α -Linolenic acid: nutraceutical, pharmacological and toxicological evaluation," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 70, pp. 163–178, 2014.
- [4] A. K. Patra and J. Saxena, "Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 91, no. 1, pp. 24–37, 2011.
- [5] M. J. Zamiri, H. Rajaei Sharifabadi, A. S. Bagheri, and A. Solhjoo, "Effects of inclusion of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) leaves, a tannin-containing plant, in a low-protein diet on feedlot performance and carcass characteristics of fat-tailed lambs," *Tropical Animal Health and Production*, vol. 47, no. 3, pp. 597–602, 2015.
- [6] R. Bhatta, Y. Uyeno, K. Tajima et al., "Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations," *Journal of Dairy Science*, vol. 92, no. 11, pp. 5512–5522, 2009.
- [7] V. Vasta, A. Priolo, M. Scerra, K. G. Hallett, J. D. Wood, and O. Doran, " $\Delta 9$ desaturase protein expression and fatty acid composition of longissimus dorsi muscle in lambs fed green herbage or concentrate with or without added tannins," *Meat Science*, vol. 82, no. 3, pp. 357–364, 2009.
- [8] K. A. Beauchemin and S. M. McGinn, "Methane emissions from beef cattle: Effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil," *Journal of Animal Science*, vol. 84, no. 6, pp. 1489–1496, 2006.
- [9] A. Francisco, M. T. Dentinho, S. P. Alves et al., "Growth performance, carcass and meat quality of lambs supplemented with increasing levels of a tanniferous bush (*Cistus ladanifer* L.) and vegetable oils," *Meat Science*, vol. 100, pp. 275–282, 2015.
- [10] J. L. Dávila-Ramírez, U. Macías-Cruz, N. G. Torrentera-Olivera et al., "Effects of zilpaterol hydrochloride and soybean oil supplementation on feedlot performance and carcass characteristics of hair-breed ram lambs under heat stress conditions," *Journal of Animal Science*, vol. 92, no. 3, pp. 1184–1192, 2014.
- [11] H.-L. Mao, J.-K. Wang, Y.-Y. Zhou, and J.-X. Liu, "Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs," *Livestock Science*, vol. 129, no. 1–3, pp. 56–62, 2010.
- [12] V. Vasta, A. Nudda, A. Cannas, M. Lanza, and A. Priolo, "Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants," *Animal Feed Science and Technology*, vol. 147, no. 1–3, pp. 223–246, 2008.
- [13] K. Jeeva, M. Thiagarajan, V. Elangovan, N. Geetha, and P. Venkatachalam, "*Caesalpinia coriaria* leaf extracts mediated biosynthesis of metallic silver nanoparticles and their antibacterial activity against clinically isolated pathogens," *Industrial Crops and Products*, vol. 52, pp. 714–720, 2014.
- [14] S. Rojas, J. Olivares, I. Gutiérrez, R. Jiménez, F. León, and A. Córdova, "Use of *Crescentia alata* and *Guazuma ulmifolia* fruits in lamb feeding in subtropical region of Guerrero, Mexico," *Revista Científica FCV-LUZ*, vol. 23, pp. 157–162, 2013.
- [15] S. Rojas-Hernandez, J. Olivares-Perez, F. Aviles-Nova, A. Villa-Mancera, A. Reynoso-Palomar, and L. M. Camacho-Díaz, "Productive response of lambs fed *Crescentia alata* and *Guazuma ulmifolia* fruits in a tropical region of Mexico," *Tropical Animal Health and Production*, vol. 47, no. 7, pp. 1431–1436, 2015.
- [16] AOAC, *Official Methods of Analysis*, Association of Official Analytical Chemists, Washington, Wash, USA, 16th edition, 1990.

- [17] P. J. van Soest, J. B. Robertson, and B. A. Lewis, "Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition," *Journal of Dairy Science*, vol. 74, no. 10, pp. 3583–3597, 1991.
- [18] R. A. Stock, D. R. Brink, R. A. Britton et al., "Feeding combinations of high moisture corn and dry-rolled grain sorghum to finishing steers," *Journal of Animal Science*, vol. 65, no. 1, pp. 290–302, 1987.
- [19] J. Van Keulen and B. A. Young, "Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies," *Journal of Animal Science*, vol. 44, no. 2, pp. 282–287, 1977.
- [20] S. R. Silva, M. J. Gomes, A. Dias-Da-Silva, L. F. Gil, and J. M. T. Azevedo, "Estimation in vivo of the body and carcass chemical composition of growing lambs by real-time ultrasonography," *Journal of Animal Science*, vol. 83, no. 2, pp. 350–357, 2005.
- [21] T. L. Wheeler, S. D. Shackelford, L. P. Johnson, M. F. Miller, R. K. Miller, and M. Koohmaraie, "A comparison of Warner-Bratzler shear force assessment within and among institutions," *Journal of Animal Science*, vol. 75, no. 9, pp. 2423–2432, 1997.
- [22] G. Ripoll, P. Albertí, and M. Joy, "Influence of alfalfa grazing-based feeding systems on carcass fat colour and meat quality of light lambs," *Meat Science*, vol. 90, no. 2, pp. 457–464, 2012.
- [23] T. H. Terrill, A. M. Rowan, G. B. Douglas, and T. N. Barry, "Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 58, no. 3, pp. 321–329, 1992.
- [24] J. López, I. Tejada, C. Vásquez, J. De Dios Garza, and A. Shimada, "Condensed tannins in tropical fodder crops and their in vitro biological activity: Part 2," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 84, no. 4, pp. 295–299, 2004.
- [25] L. J. Porter, L. N. Hrstich, and B. G. Chan, "The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin," *Phytochemistry*, vol. 25, no. 1, pp. 223–230, 1985.
- [26] T. N. Asquith and L. G. Butler, "Use of dye-labeled protein as spectrophotometric assay for protein precipitants such as tannin," *Journal of Chemical Ecology*, vol. 11, no. 11, pp. 1535–1544, 1985.
- [27] H. Hedqvist, I. Mueller-Harvey, J. D. Reed, C. G. Krueger, and M. Murphy, "Characterisation of tannins and in vitro protein digestibility of several *Lotus corniculatus* varieties," *Animal Feed Science and Technology*, vol. 87, no. 1-2, pp. 41–56, 2000.
- [28] J. Folch, M. Lees, and G. H. Sloane Stanley, "A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 226, no. 1, pp. 497–509, 1957.
- [29] N. C. Shantha, E. A. Decker, and B. Hennig, "Comparison of methylation methods for the quantitation of conjugated linoleic acid isomers," *Journal of AOAC International*, vol. 76, pp. 644–649, 1993.
- [30] G. D. R. Steel, J. H. Torrie, and D. A. Dickey, *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*, McGraw-Hill, New York, NY, USA, 1997.
- [31] D. Anandhi, P. T. Srinivasan, K. Revathi, and E. K. Revathy, "Antibacterial activity of *Caesalpinia coriaria*," *Biosciences, Biotechnology Research Asia*, vol. 8, no. 2, pp. 759–764, 2011.
- [32] L. M. Camacho, R. Rojo, A. Z. M. Salem et al., "In vitro ruminal fermentation kinetics and energy utilization of three Mexican tree fodder species during the rainy and dry period," *Animal Feed Science and Technology*, vol. 160, no. 3-4, pp. 110–120, 2010.
- [33] A. L. Abdalla, H. Louvandini, S. M. A. H. Sallam, I. C. S. da Bueno, S. M. Tsai, and A. V. O. de Figueira, "In vitro evaluation, in vivo quantification, and microbial diversity studies of nutritional strategies for reducing enteric methane production," *Tropical Animal Health and Production*, vol. 44, no. 5, pp. 953–964, 2012.
- [34] B. R. Min, W. C. McNabb, T. N. Barry, P. D. Kemp, G. C. Waghorn, and M. F. McDonald, "The effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon reproductive efficiency and wool production in sheep during late summer and autumn," *Journal of Agricultural Science*, vol. 132, no. 3, pp. 323–334, 1999.
- [35] R. Bhatta, M. Saravanan, L. Baruah, and C. S. Prasad, "Effects of graded levels of tannin-containing tropical tree leaves on in vitro rumen fermentation, total protozoa and methane production," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 118, no. 3, pp. 557–564, 2015.
- [36] S. B. Soares, I. F. Furusho-Garcia, I. G. Pereira et al., "Performance, carcass characteristics and non-carcass components of Texel × Santa Inês lambs fed fat sources and monensin," *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 41, no. 2, pp. 421–431, 2012.
- [37] G. Fiorentini, J. D. Messana, P. H. M. Dian et al., "Digestibility, fermentation and rumen microbiota of crossbred heifers fed diets with different soybean oil availabilities in the rumen," *Animal Feed Science and Technology*, vol. 181, no. 1-4, pp. 26–34, 2013.
- [38] J. Santos-Silva, I. A. Mendes, P. V. Portugal, and R. J. B. Bessa, "Effect of particle size and soybean oil supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs," *Livestock Production Science*, vol. 90, no. 2-3, pp. 79–88, 2004.
- [39] M. Przywitowski, D. Mikulski, Z. Zdunczyk, A. Rogiewicz, and J. Jankowski, "The effect of dietary high-tannin and low-tannin faba bean (*Vicia faba* L.) on the growth performance, carcass traits and breast meat characteristics of finisher turkeys," *Animal Feed Science and Technology*, vol. 221, pp. 124–136, 2016.
- [40] G. Luciano, F. J. Monahan, V. Vasta, L. Biondi, M. Lanza, and A. Priolo, "Dietary tannins improve lamb meat colour stability," *Meat Science*, vol. 81, no. 1, pp. 120–125, 2009.
- [41] M. Du, G. Cherian, P. A. Stitt, and D. U. Ahn, "Effect of dietary sorghum cultivars on the storage stability of broiler breast and thigh meat," *Poultry Science*, vol. 81, no. 9, pp. 1385–1391, 2002.
- [42] S. Calabró, M. I. Cutrignelli, O. J. Gonzalez et al., "Meat quality of buffalo young bulls fed faba bean as protein source," *Meat Science*, vol. 96, no. 1, pp. 591–596, 2014.
- [43] B. R. Min, S. Solaiman, E. Taha, and J. Lee, "Effect of plant tannin-containing diet on fatty acid profile in meat goats," *Journal of Animal Research and Nutrition*, vol. 1, article 5, 2015.
- [44] I. Lerma-Reyes, G. D. Mendoza-Martínez, R. Rojo-Rubio, M. Mejía, J. C. García-López, and H. A. Lee-Rangel, "Influence of supplemental canola or soybean oil on milk yield, fatty acid profile and postpartum weight changes in grazing dairy goats," *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, vol. 31, no. 2, pp. 225–229, 2018.



Efecto del propionato de calcio en bloques sobre respuesta productiva, CH₄ y CO₂ en corderos

Effect of calcium propionate in blocks on productive response, CH₄ and CO₂ in lambs

Calcium propionate in multinutritional blocks in lambs

Nallely Sánchez L,¹ M.Sc., Germán Mendoza M,¹ Ph.D., José Martínez G,² Dr., Pedro Hernández G,³ Dr., Luis Miranda R,⁴ Dr., Oscar Villarreal EB,^{5*} Dr.

¹Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, CDMX., 04960, México. ²Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, CDMX, México, 04960.

³Universidad del Estado de México, Centro Universitario Amecameca, 56900, México. ⁴Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo, México, Edo. Mex., 56230, México. ⁵Benemérita Universidad Autónoma de Puebla Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Km.

7.5 Carretera Tecamachalco, Cañada Morelos, El Salado Tecamachalco, Puebla, México 75480. *Correspondencia: dr.oscarvillarreal@gmail.com

RESUMEN

Objetivo. Evaluar dos bloques multinutricionales formulados para mejorar el crecimiento de los corderos alimentados con una dieta basal de bajo valor nutritivo, con y sin propionato de calcio (Pr-Ca), evaluando el crecimiento de los corderos, digestibilidad y las emisiones de gases efecto invernadero *in vivo* e *in vitro*. **Materiales y métodos.** Se utilizaron doce borregos (20.17 ± 2.35 Katahdin x criollo) en tres tratamientos: Dieta basal (DB 70% paja de avena; 30% concentrado), DB+ Bloque sin Pr-Ca y DB + Bloque con 1.5% de Pr-Ca, por 50 días. Se midió producción de gas (PG) *in vitro* y se estimaron los parámetros de cinética (Vmax, S, Lag). Se estimaron la digestibilidad, CH₄ y CO₂ *in vitro* e *in vivo*. **Resultados.** El consumo fue menor ($P<0.0001$) en borregos sin bloque (753 g/d) en comparación con bloque sin (839 g) o con Pr-Ca (828 g) emisiones de metano mayor con bloques (16.16 y 16.18 g/d; 0 y 1.5% Pr-Ca respectivamente) que con DB (13.93 g/d). La PG *in vitro* fue mayor ($P=0.0001$) con la DB (380.76 ml) sin

diferencias entre bloques (335.76 y 341.13 ml, 0 y 1.5% Pr-Ca respectivamente), y la DB tuvo mayor ($P=0.0001$) producción de CH₄ (47.16 mol) y CO₂ (200.04 mol) que con bloques (42.25 y 41.58 mol CH₄; 179.21 y 176.39 moles CO₂; 0 y 1.5% Ca-Pr respectivamente). **Conclusiones.** La suplementación con bloques mejora el consumo. *In vitro* los bloques redujeron la producción de gas e incrementaron la digestibilidad reduciendo CH₄ y CO₂.

Palabras clave: aditivo, bloque multinutricional, gases efecto invernadero, pequeño rumiante, suplementación.

ABSTRACT

Objective. Evaluate two multinutritional blocks formulated to improve the growth of lambs fed a basal diet of low nutritional value, with and without calcium propionate (Ca-Pr) evaluating the growth of lambs, digestibility and greenhouse gas emissions *in vivo* and *in vitro*.

Materials and methods. Twelve sheep were used (20.17 ± 2.35 Katahdin x criollo) in three treatments: Basal diet (BD 70% oat straw, 30% concentrate), BD+ Block without Ca-Pr and BD+ Block with 1.5% Ca-Pr, it was evaluated for 50 days. *In vitro* gas production (GP) and kinetic parameters were estimated (Vmax, S, Lag). Digestibility, CH₄ and CO₂ *in vitro* and *in vivo* were estimated. **Results.** The intake was the lowest ($P<0.0001$) in lambs without block (753 g/d) compared lambs supplemented with block without (839 g) or with Ca-Pr (828 g) and the methane emission was greater with both blocks (16.16 and 16.18 g/d; 0 and 1.5% Ca-Pr respectively) than with BD (13.93 g/d). The GP *in vitro* was higher ($P=0.0001$) with the BD (380.76, ml) than with blocks without differences among blocks (335.76 and 341.13 ml, 0 and 1.5% Ca-Pr respectively), and the BD had higher ($P=0.0001$) production of CH₄ (47.16 mol) and CO₂ (200.04 mol) than with blocks (42.25 and 41.58 mol CH₄; 179.21 and 176.39 mol CO₂; 0 and 1.5% Ca-Pr respectively). **Conclusions.** Block supplementation improves consumption. *In vitro* the blocks reduced gas production and increased digestibility by reducing CH₄ and CO₂.

Key words: additive, multinutritional block, greenhouse gases, small ruminant, supplementation.

INTRODUCCIÓN

Se han realizado varios estudios sobre las emisiones de gases efecto invernadero (GEI) para evaluar la contribución de los rumiantes y las alternativas para mitigar el problema (1), el cual representa arriba del 12% de la energía consumida (2). Para reducir estas pérdidas y hacer que la producción sea más eficiente utilizando aditivos (3,4) que en ocasiones no mejoran el rendimiento (5) o no impactan la fermentación (6) y los más eficientes como los ionóforos han sido prohibidos porque son antibióticos.

El uso de propionato de calcio (Pr-Ca) como una fuente de alimentación no convencional ha sido utilizada en corderos para reducir el consumo de granos, incrementando el propionato ruminal (7). Su potencial para reducir el metano se explica porque durante su disociación captura el ion de hidrógeno reduciendo su disponibilidad para formar metano (8). Se sabe que las emisiones de GEI pueden reducirse si se mejora la digestibilidad, lo cual se puede lograr con una nutrición adecuada, particularmente en rumiantes alimentados con dietas con forrajes de baja calidad (9). Esto puede realizarse por la suplementación de bloques multinutricionales (BM) que han sido evaluados en todo el mundo (10), sin embargo, la respuesta no ha sido constante porque durante muchos años la FAO promovió una fórmula de bloque para todas las condiciones (11) cuando los requerimientos de nutrientes son diferentes por etapas fisiológicas y con una diversidad de dietas basales. Por lo tanto, el objetivo de este experimento fue evaluar dos bloques multinutricionales formulados con el fin de mejorar el crecimiento de los corderos alimentados con una dieta basal de bajo valor nutritivo, con o sin Pr-Ca, evaluando el impacto en el crecimiento del cordero, digestibilidad y en las emisiones de GEI *in vivo* e *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Doce Katahdin x cordero criollo (20.17 ± 2.35 peso inicial (PI)) alojados en jaulas individuales con acceso al alimento y agua limpia *ad libitum*. Al comienzo del experimento, los corderos fueron

desparasitados (Closantel 5 mg/kg PV) y vitaminados (A, D y E, Vigantol ® de Bayer 2 ml/cordero).

Los corderos fueron distribuidos en un Diseño Completamente al Azar ($n=4$ corderos) en tres tratamientos: dieta basal sin suplementar (DB: 70% rastrojo de maíz, 30% concentrado, Tabla 1), DB con acceso a bloque multinutricional con o sin 1.5% de Pr-Ca (Alimentaria Mexicana Bekarem, Ciudad de México) (Tabla 2). El alimento y los bloques fueron ofrecidos *ad libitum*. La dieta basal fue diseñada con bajo valor nutricional para evaluar el impacto de la suplementación siendo representativa de los productores de la región. Los bloques multinutricionales (BM) fueron formulados considerando las recomendaciones del NRC (12) estimando un consumo de 100 g/d bloque. La dieta basal y bloques fueron analizados para determinar: materia seca, materia orgánica, proteína cruda (13), fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA) (14) (Tabla 3).

El experimento duró 50 días. Los corderos fueron pesados con 12 horas de ayuno. En el día 24 las muestras fecales fueron recolectadas por cuatro días consecutivos para determinar la digestibilidad del tracto total de la MS usando ceniza de ácido insoluble como marcador interno (15). Las ecuaciones de IPCC fueron usadas (16) para estimar el metano ruminal utilizando el factor de emisión anual (FE) por cordero, donde el Y_m o fracción de la energía bruta del alimento transformado a CH_4 fue calculado utilizando la digestibilidad de cada tratamiento con ecuaciones para cordero (17). Las emisiones de dióxido de carbono fueron estimadas del consumo de carbohidratos digestibles (18), que se usaron para estimar los moles de hexosa fermentados en el rumen usando el peso molecular de glucosa anhidra (19). El patrón de fermentación fue de la relación forraje:concentrado y por las ecuaciones estequiométricas de Wolin (20) fueron calculados los moles de CO_2 producidos.

La producción de gas derivada de la fermentación ruminal fue determinada por la técnica de gas *in vitro* (21). La DB se utilizó como sustrato incubado con cada BM en una proporción del 5% de la dieta basal. Antes de la incubación, los sustratos se secaron a 55 °C por 48 h en un horno y molido (<2 mm). Quinientos miligramos de cada tratamiento se colocaron en botellas ámbar de 125 ml de capacidad.

Después se incubaron en condiciones anaeróbicas con 90 ml de un inóculo diluido (1:10) de bacterias del rumen obtenidas de dos corderos en ayuno. Los frascos fueron herméticamente sellados e incubados a 39°C por 72 h en baño maría. El volumen de gas producido se registró a las 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 42, 48, 60 y 72 h y los valores de presión transformados a volumen de gas con la ecuación de regresión lineal, usada para estimar los parámetros de la cinética de producción de gas: volumen máximo de gas (V_m ; mL g⁻¹ MS del sustrato), tasa de producción de gas (S ; h⁻¹) y el tiempo lag de la fermentación (L ; h), con el modelo: $V_o = V_m / (1 + e^{(2-4 \cdot s \cdot (t-L))})$ (21). Al final de la fermentación se obtuvo la materia seca residual (MS) para calcular la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) a las 72 h de incubación, cada tratamiento incubado por triplicado. El CH₄ y CO₂ *in vitro* fueron estimados del volumen máximo de gas. Las cadenas cortas de aminoácidos fueron calculadas con la ecuación de Getachew (22) y la proporción de metano y dióxido de carbono los factores estequiométricos utilizados fueron 0.538 mmol para CO₂ y 0.348 mmol CH₄ que se han descrito en otros estudios *in vitro* (23).

Los resultados de los corderos *in vivo* se analizaron con un Diseño Completamente al Azar, considerando cada borrego como unidad experimental y tratamientos con efectos fijos. El peso inicial fue analizado como covariable utilizando el software JMP (24). Los parámetros de cinética de gas *in vitro* fueron estimados usando modelos no lineales JMP. Se estimó la correlación simple entre los resultados de GEI *in vivo* e *in vitro* (24).

RESULTADOS

La suplementación con BM incrementó el consumo ($P<0.01$) por 10%, sin embargo, no se encontraron diferencias en otras variables (Tabla 4). La suplementación con bloques no redujo las emisiones diarias de metano y CO₂ debido al mayor consumo de alimento. El propionate de calcio en el bloque no redujo el consumo ni emisiones de GEI. En la Tabla 5 se muestran los parámetros de gas *in vitro*. La dieta basal resultó con un alto volumen de gas ($P<0.001$) y como consecuencia, se produjeron más moles de CH₄ y CO₂ ($P<0.0001$). No hubo diferencias entre los bloques por la inclusión de Pr-Ca. La digestibilidad *in vitro* no se vió afectada por la suplementación con

bloque. Los valores de digestibilidad *in vitro* fueron correlacionados con los observados *in vivo* ($r= 0.9964$, $P=0.054$), y la digestibilidad *in vivo* está asociada con la ganancia diaria de peso ($r=0.99768$, $P=0.0434$). Las emisiones de metano y dióxido de carbono fueron positivamente correlacionadas con el consumo de materia seca ($r= 0.9921$, $P=0.07$; $r=0.9920$, $P=0.08$). El metano y dióxido de carbono *in vivo* e *in vitro* mostraron una alta correlación negativa ($r= -0.99$, $P=0.07$; $r=-0.99$, $P=0.07$).

DISCUSIÓN

Como se observó en este experimento, se ha reportado que los BM estimulan el consumo (25) pero hay estudios donde no tuvieron efecto (26). La composición de los bloques puede modificar el consumo (10), existiendo interacciones entre contenido de nutrientes en el bloque y en la dieta basal. En esos estudios, cuando mejora el consumo, generalmente se han observado mayores ganancias diarias o peso final y en algunos casos, esto se asocia con una mayor digestibilidad (9) y consumo de nutrientes. En este estudio la ganancia fue mejorada en un 35% pero el bajo número de repeticiones y la variación no permitió detectar diferencias. El tipo de bloque puede tener diferentes efectos en el consumo y la digestibilidad. Al modificar la fuente de energía afectó el consumo de bloque sin afectar la digestibilidad (25).

La incorporación de Pr-Ca en el BM no mejoró el rendimiento del cordero ni las emisiones de dióxido de carbono. Si los valores de metano y dióxido de carbono *in vivo* fueran expresados por kg de materia seca consumida resultarían valores similares (DB 1.84, 1.95 y 1.92 por BM con 0 ó 1.5% Pr-Ca) lo que indica que el consumo de bloques y sus aditivos fueron insuficientes para modificar la fermentación ruminal. En otras evaluaciones, el Pr-Ca no afectó el consumo ni el rendimiento del cordero, 1% MS (7) y arriba de 5.5% MS (27) la cantidad consumida en el bloque estuvo por debajo de esos estudios. Los resultados de gas *in vitro* indican que los bloques reducirían el metano, pero los valores *in vivo* contradicen esto ya que aumentan el consumo. Se debe tener precaución al extrapolalar los resultados de los estudios de gas *in vitro* donde no se presentan datos *in vivo* (28). Con respecto a otros parámetros de gas *in vitro*, se ha reportado que el 1% Pr-Ca aumenta la

fase Lag pero no afecta el patrón de fermentación ó pérdidas de metano (29). En otro estudio *in vitro* con 10% de Pr-Ca, el volumen de gas aumentó el cual fue atribuido a los efectos sobre pH y a la presión osmótica (8). En una evaluación *in vivo* con toros recibieron 20 g/d de Pr-Ca, no afectaron la fermentación ni la población microbiana (30), pero la dosis fue muy baja.

El uso de BM podría reducir el tiempo de los corderos para alcanzar el peso final de 44 a 60 días suplementando sin ó con propionate de calcio respectivamente, reduciendo emisiones diarias, y podría ser una alternativa para reducir las emisiones globales de GEI. La mayoría de los estudios se centran en datos diarios, pero es importante considerar los efectos y su impacto sobre el calentamiento global en términos de tiempo (21).

CONCLUSIÓN

La suplementación con bloques multinutricionales en dietas de baja calidad mejoró el consumo. *In vitro* los bloques redujeron la producción de gas y aumentaron la digestibilidad, por lo que potencialmente podrían reducir las emisiones de metano y dióxido de carbono.

AGRADECIMIENTOS

El primer autor agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT México). Ésta investigación fue parcialmente respaldada por PROFIDES SEP México y el Programa para el Desarrollo Profesional Docente, para el Tipo Superior (PRODEP). Los autores agradecen a Grupo Biotecap S.A. de C.V. por la donación de minerales orgánicos.

DIVULGACIÓN DE DECLARACIÓN

Los autores no tienen ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. Patra A, Park T, Kim M, Yu Z. Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. Journal Animal Science Biotechnology 2017; 8(1): 13.

2. Mendoza-Martínez GD, Plata-Pérez FX, Espinosa-Cervantes R, Lara-Bueno A. Manejo nutricional para mejorar la eficiencia de utilización de la energía en bovinos. Universidad y Ciencia 2008; 24(1): 75-87.
3. Crossland WL, Tedeschi LO, Callaway TR, Miller MD, Smith W. Effects of rotating antibiotic and ionophore feed additives on enteric methane and rumen microbial populations of steers consuming a high forage diet. Journal Animal Science 2016; 94(5): 666-667.
4. Ferraro SM, Mendoza GD, Miranda LA, Gutiérrez CG. *In vitro* gas production and ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses. Animal Feed Science Technology 2009; 154 (1-2): 112-118.
5. Liu Q, Wang C, Yang WZ, Guo G, Yang XM, He DC, et al. Effects of calcium propionate supplementation on lactation performance, energy balance and blood metabolites in early lactation dairy cows. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 2010; 94(5): 605-614.
6. Avila JS, Chaves AV, Hernandez-Calva M, Beauchemin KA, McGinn SM, Wang Y, et al. Effects of replacing barley grain in feedlot diets with increasing levels of glycerol on *in vitro* fermentation and methane production. Animal Feed Science and Technology 2011; 166: 265-268.
7. Lee-Rangel HA, Mendoza GD, González SS. Effect of calcium propionate and sorghum level on lamb performance. Animal Feed Science and Technology 2012; 177(3-4): 237-241.
8. Osorio-Teran AI, Mendoza-Martínez GD, Miranda-Romero LA, Martínez-Gomez D, Hernández-García PA, Martínez-García JA. Effect of calcium propionate and monensin on *in vitro* digestibility and gas production. Revista Brasileira de Zootecnia 2017; 46(4): 348-353.
9. Yue-ming WU, Wei-lian HU, Jian-xin LIU. Effects of supplementary urea-minerals lick block on the kinetics of fibre digestion, nutrient

- digestibility and nitrogen utilization of low quality roughages. Journal of Zhejiang University Science B 2005; 6(8): 793-797.
10. Mendoza GD, Plata FX, Vázquez G, Sánchez-Trocino M, Hernández PA, Martínez JA. Intake and digestibility with nutritional blocks for brocked deers (*Mazama americana* and *Mazama temama*). International Journal Applied Research in Veterinary Medicine 2017; 15: 26-30.
 11. Makkar HP, Sánchez M, Speedy AW. Feed supplementation blocks: urea-molasses multinutrient blocks: simple and effective feed supplement technology for ruminant agricultura. Food & Agriculture Org 2007; 164.
 12. NRC. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Firts ed. National Research Council, National Academic Science, Washington, DC, USA 2007; 292.
 13. AOAC, Association of Official Analytical Chemists. Methods of Analysis. Washington D.C., USA 1995.
 14. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal Dairy Science 1991; 74: 3583-3597.
 15. Keulen V, Young BA. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. Journal of Animal Science 1977; 44: 282-287.
 16. IPCC, Fourth Assessment Report: Climate Change. Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge 2007.
 17. Cambra-López M, García-Rebollar P, Estellés F, Torres A. Estimación de las emisiones de los rumiantes en España: El Factor de Conversión de Metano. Archivos de Zootecnia 2008; 57: 89-101.

18. ARC. The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock. Commonwealth Agricultural Bureau, Surrey, UK. 1980.
19. Briceño PEG, Ruiz GA, Chay CAJ, Ayala BAJ, Aguilar PCF, Solorio SFJ, et al. Voluntary intake, apparent digestibility and prediction of methane production by rumen stoichiometry in sheep fed pods of tropical legumes. Animal Feed Science and Technology 2012; 176: 17-122.
20. Wolin JM. A theoretical rumen fermentation balance. Journal of Dairy Science 1960; 40: 1452-1459.
21. Menke KH, Steingass H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Research Development Journal 1988; 28:7-55.
22. Getachew G, Makkar HPS, Becker K. Tropical browse: contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. The Journal of Agricultural Science 2002; 139:(3) 341-352.
23. Blümmel M.; Steingaß, H.; Becker, K. The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and ¹⁵N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. British Journal of Nutrition 1997; 77: 911-921.
24. Sall J, Lehman A, Stephens M, Creighton L. 'JMP® start statistics: a guide to statistics and data analysis.' 5th ed. SAS Institute Inc.: Cary, NC 2012.
25. Faftine OLJ, Zanetti AM. Effect of multinutrient block on feed digestibility and performance of goats fed maize stover during the dry season in south of Mozambique. Livestock Research for Rural Development 2010; 22: 162.
26. Wadhwa M, Bakshi MPS. Nutritional evaluation of urea molasses multi-nutrient blocks containing agro-industrial wastes in buffaloes. Indian Journal Animal Science 2014; 84: 544-548.

27. Berthelot V, Bas P, Schmidely P, Duvaux-Ponter C. Effect of dietary propionate on intake patterns and fatty acid composition of adipose tissues in lambs. *Small Ruminant Research* 2001; 40: 29–39.
28. Elghandour MM, Salem AZ, Khusro A, Cipriano-Salazar M, Olivares-Pérez J, Barros-Rodriguez MA, et al. Assessment of some browse tree leaves on gas production and sustainable mitigation of CH₄ and CO₂ emissions in dairy calves at different age. *Journal of Cleaner Production* 2017; 162: 1192-1199.
29. Miranda LA, Lee-Rangel HA, Mendoza-Martínez GD, Crosby-Galván MM, Relling AE, Pinos-Rodríguez JM, et al. Influence of calcium propionate on in vitro fermentation of sorghum-based diets. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. 2017; 49(1) 185-192.
30. Yao Q, Li Y, Meng Q, Zhou Z. The effect of calcium propionate on the ruminal bacterial community composition in finishing bulls. *Asian Australas Journal Animal Science* 2017; 30: 495-504.

Tabla 1. Composición de la dieta experimental basal (materia seca) concentrado de forraje 70:30

Ingredientes	Inclusión, %
Rastrojo de maíz	70.00
Grano de maíz	9.22
Pasta de soya	11.00
Sorgo	8.80
Sal	1.00
Total	100.00

Tabla 2. Formulación de bloques experimentales

	Propionato de calcio 0%	Propionato de calcio 1.5%
Melaza	31.81	31.91
Urea	9.09	9.11
Propionato de calcio	0	1.50
Pasta de soya	4.54	4.55
Harina de canola	2.27	2.27
Harina de pescado	2.27	2.27
Sal	4.54	4.55
Premezcla mineral ^a	4.54	4.55
Cal	4.54	4.55
Cemento	4.54	4.55
Premezcla mineral orgánica ^b	0.90	0.91
Salvado de trigo	9.09	9.11
Cascarilla de soya	4.54	4.55
Grano de maíz	8.18	6.38
Grano de trigo	9.09	9.11

^a Vitasal Engorda Ovinos Plus contenía: Ca 270 g, P 30 g, Mg 7.5 g, Na 65.6 g, Cl 100 g, K 0.5 g, S 42 mg, Fe 978 mg, Zn 3000 mg, Se 20 mg, Co 15 mg, vitamina A 35000 UI, vitamina D 1500000 IU y vitamina E 150 UI.

^b Ovy ways 3 contenía: Selenio 590 mg, Cromo 990 mg, Cobre 1500 mg, Hierro 3000 mg, Zinc 3000 mg, Manganeso 3000 mg, Células de levadura vivas.

Tabla 3. Composición química de la dieta basal y bloques experimentales multinutricionales

	Ración basal	Blocks	
		Pr-Ca 0%	Pr-Ca 1.5%
MS, %	89.28	89.32	89.26
Cenizas, %	4.47	7.63	7.73
MO, %	95.53	92.36	92.25
PC, %	11.05	11.53	11.76
FDN, %	40.28	36.71	36.50
FDA, %	14.85	13.77	13.57
EE, %	3.13	2.72	2.72

Pr-Ca: Propionato de calcio en bloque; MS: materia seca; MO: materia orgánica; PC: proteína cruda; FDN: fibra detergente neutra; FDA: fibra detergente ácida; EE: extracto etéreo

Tabla 4. Rendimiento productivo emisión de metano y dióxido de carbono de corderos suplementados con bloques con o sin propionato de calcio

	Control	Bloques			EEM	<i>P-value</i>
		Pr-Ca 0%	Pr-Ca 1.5%			
Peso inicial, kg	21.23	19.70	19.60	0.40	0.59	
Peso final, kg	23.98	23.25	23.52	0.74	0.94	
CMS, g	753 ^c	839 ^b	828 ^a	0.01	0.0001	
Consumo bloque, g	0.0 ^b	82 ^a	86 ^a	6.48	0.0001	
GDP, g	0.098	0.126	0.140	0.34	0.36	
CA	9.94	6.98	6.39	0.37	0.51	
Digestibilidad MS, %	76.87	80.04	81.22	0.28	0.32	
CH ₄ , g/d	13.93 ^b	16.16 ^a	16.18 ^a	0.003	0.004	
CO ₂ , g/d	55.29 ^b	64.15 ^a	64.24 ^a	0.003	0.004	

Pr-Ca: Propionato de calcio en bloque; EEM: error estándar de la media; CMS: consumo de materia seca; GDP: ganancia diaria de peso; CA: conversión alimenticia, MS: materia seca; CH₄: metano; CO₂: dióxido de carbono.

^{ab} Medias con diferentes superíndices son diferentes (*P*<0.05)

Tabla 5. Parámetro de producción de gas *in vitro* y dieta basal de incubación de metano y dióxido de carbono más bloques con o sin propionato de calcio

	Control	Bloques		EEM	P-value
		Pr-Ca 0%	Pr-Ca 1.5%		
Vmax, ml	380.76 ^a	335.76 ^b	341.13 ^b	0.567	0.0044
S, h ⁻¹	0.030 ^b	0.033 ^a	0.032 ^a	0.108	0.0005
Lag, h	2.87	3.10	2.79	0.059	0.1283
DIVMS, %	60.96	63.89	64.58	0.622	0.0734
CH ₄ , mol	47.16 ^a	41.58 ^b	42.25 ^b	0.568	0.0044
CO ₂ , mol	200.04 ^a	176.39 ^b	179.21 ^b	0.567	0.0044

Ca-Pr: Propionato de calcio en bloque; EEM, error estándar de la media; Vmax: volumen máximo, S: tasa de producción de gas, Lag: tiempo de retraso, DIVMS: digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

^{ab} Medias con diferentes superíndices difieren (P <0.05).

Nivel nutricional y uso de fuentes herbales en bloques sobre CH₄ y CO₂ en corderos

Nallely Sánchez, Germán David Mendoza, José Antonio Martínez García, Pedro Abel

Hernández García, Oscar A. Villareal-Espino Barros*

Nallely Sánchez. Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México, D.F., México 04960.

Germán David Mendoza Martínez. Coordinador de Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México, D.F., México 04960.

José Antonio Martínez García. Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México, D.F., México 04960.

Pedro Abel Hernández García. Universidad del Estado de México, Centro Universitario Amecameca, 56900, México.

Oscar A. Villareal-Espino Barros. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Km. 7.5 Carretera Tecamachalco, Cañada Morelos, El Salado Tecamachalco, Puebla, México 75480. dr.oscarvillarreal@gmail.com

RESUMEN

El objetivo fue evaluar el efecto en dos niveles de nutrición y suplementación con bloques multinutricionales (BM) utilizando hierbas nutracéuticas sobre el crecimiento de corderos y emisiones de CH₄ y CO₂. Treinta y dos corderos en dos niveles de nutrición (dieta basal de mantenimiento (DBM) 9.36% PC, 2.35 Mcal EM/kg MS; dieta basal crecimiento (DBC) 13.75% PC, 2.73 Mcal EM/kg MS), en dos períodos (30 y 50 días). Los BM incluyen (Biocolina: OptiLisina: OptiMetionina) en proporción ((0:0:0), (3:0:0),

(3:0.75:0.25)) con grupo control sin suplementar. Las emisiones de CH₄ y CO₂ se estimaron utilizando digestibilidad y consumo *in vivo*. Se determinó cinética de producción de gas y digestibilidad *in vitro*. Los corderos en DBM mostraron bajo rendimiento(P<0.05), el grupo sin suplementar perdieron peso (-0.25^b g/d) la ganancia mejoró ligeramente con BM (24^{ab} g/d (3:0:0)), mostrando mayor respuesta (49^a g/d (3:0.75:0.25) y 46^a g/d (0:0:0)) con los bloques que contienen más proteína. Durante el periodo de crecimiento (DBC), las ganancias mejoraron (P<0.05), siendo más altas con los bloques que contenían más hierbas (215^a g/d (3:0.75:0.25)). El metano (0.555^b g/d) y dióxido de carbono (2.203^b g/d) disminuyeron (P <0.05) con el bloque (0:0:0) y sin suplementación (0.638^b CH₄ g/d; 2.532^b CO₂), la producción global de gas fue menor con bloque (3: 0.75: 0.25) reduciendo días de emisión. La digestibilidad *in vitro* de la MS mejoró linealmente (P=0.05). El uso de fuentes herbales puede ser utilizado en bloques para suplementar corderos, disminuyendo las emisiones de CH₄ y CO₂ al reducir el tiempo de engorda.

Palabras clave: colina. corderos. lisina. metionina. productos herbales.

INTRODUCCION

Para obtener un crecimiento adecuado en corderos se debe considerar un correcto balance de nutrientes que cubra las exigencias nutricionales de acuerdo a la etapa fisiológica en la que se encuentre el rumiante (NRC, 2007). En la etapa de crecimiento de ovinos se consideran limitantes la metionina y lisina por lo que varios estudios reportan mejor respuesta productiva al incluirlas en la dieta y de forma conjunta (Patton, 2010; Awawdeh, 2016; Han et al., 2016) y protegida de la degradación ruminal.

Otro nutriente poco considerado en nutrición ovina es la colina, cuyo metabolismo está relacionado con la metionina debido a que ambos son donadores de grupo metilo; pero además la colina interviene en la síntesis de fosfolípidos de membranas celulares y tiene funciones importantes en el transporte de lípidos hepáticos (Niculescu y Zeisel, 2002; Cole et al., 2012). Se han realizado estudios en rumiantes suplementando colina y metionina protegidos de la degradación ruminal con efectos positivos sobre la producción (Ardalan et al., 2010; Tsiplakou et al., 2017).

Existen reportes que indican que hay productos herbales con propiedades nutracéuticas que pueden aportar colina y aminoácidos (Hernández-Reyes et al., 2017, Rodríguez-Guerrero 2018) que por contener metabolitos de la planta (Hernández et al., 2007, FrAnKIČ et al., 2009) también pueden influir en la fermentación ruminal y podrían mejorar la digestibilidad y productividad de los animales e influir sobre la producción de gases efecto invernadero (Mao et al., 2010).

El nivel nutricional puede afectar la respuesta a los suplementos (Sinclair et al., 2014) y los bloques se han usado para complementar nutrientes en dietas de baja calidad con buenas respuestas en rumiantes (Usman et al., 2004; Unal et al., 2005). Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de dos niveles de nutrición y la suplementación con bloques multinutricionales que contienen productos herbales con propiedades nutracéuticas (lisina, metionina y colina) sobre la respuesta productiva, estimando el efecto en la emisión de gases efecto invernadero de corderos en crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

El Comité para el Cuidado y Uso de Animales de experimentación del Doctorado en Ciencias Agropecuarias Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco aprobó los procedimientos de este protocolo. El experimento se dividió en dos periodos con una duración de 30 y 50 días para el primer y segundo periodo respectivamente.

Se utilizaron 32 corderos (peso inicial 15.63 ± 2.86 Katahdin x criollo), los cuales recibieron vitaminas (Vigantol vitamina A, D y E de Bayer 2/ml) y fueron desparasitados (Closantel 5 mg/kg de PV) al inicio del experimento. Se usó un diseño completamente al azar distribuidos ($n=8$ borregos) donde se ofrecieron en dos periodos subsecuentes dos dietas con diferente nivel de nutrición (mantenimiento 9.36% PC, 2.35 Mcal EM/kg MS y para cubrir necesidades de crecimiento 13.75% PC, 2.73 Mcal EM/kg MS; NRC 2007). Se tuvo un grupo testigo y tres que recibieron tres bloques formulados para corderos en crecimiento considerando 100 g/d consumo de bloque (NRC, 2007; Cuadro 1) incluyendo productos herbales nutracéuticos Biocolina, OptiLisina y OptiMetionina (TechnoFeed, México, Nuproxa Suiza, Indian Herbs Co.) manteniendo una relación lisina: metionina (3:1) con una relación forraje: concentrado de 70:30 durante el periodo de mantenimiento y 50:50 en la ración de crecimiento. Los tratamientos suplementarios quedaron de acuerdo a la proporción de los productos herbales dentro del bloque (Biocolina: OptiLisina: OptiMetionina) quedaron: a) ración basal sin bloque, b) (0:0:0), c) (3:0:0), y d) (3:0.75:0.25). Los corderos recibieron alimento y agua *ad libitum*.

Se midió el consumo de alimento y de bloque por diferencia entre lo ofrecido y rechazado. Los corderos fueron pesados dos días consecutivos al inicio de cada periodo (día 0 y 1) y al final del experimento para estimar ganancia diaria de peso (GDP) y conversión alimenticia (relación de kg de consumo/ GDP). El alimento fue ofrecido a las 8:00 y 15:00

h. Se colectaron muestras de heces durante 4 días (Hernández et al., 2001) en el día 32 del segundo periodo para estimar digestibilidad de la materia seca usando cenizas ácido insolubles como marcador interno (Keulen y Young, 1977). Se determinó la composición química de raciones en cada periodo y bloques de materia seca, materia orgánica, proteína cruda (AOAC, 1995) y fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA) (Van Soest, 1994) (Cuadro 2). Se usaron las ecuaciones del IPCC (2007) para estimar el metano ruminal con el factor de emisión anual para ovinos, usando la digestibilidad de cada tratamiento con ecuaciones para ovinos (Cambra et al., 2008). Las emisiones de dióxido de carbono se estimaron a partir del consumo de carbohidratos digestibles (ARC, 1980), estimando los moles de hexosa fermentados en el rumen utilizando el peso molecular de la glucosa anhidra (Briceño et al., 2012). Se usó el patrón de fermentación de acuerdo a la relación forraje concentrado de cada periodo usando los datos reportados por Orskov et al., (1968) y mediante las ecuaciones estequiométricas de Wolin (1960) reportadas por Van Soest (1994) se calcularon los moles de CO₂ producidos. Se estimó la producción total de CH₄, CO₂, g/d en relación con los días que alcanza peso al mercado (Cuadro 5).

Producción de gas *in vitro*. Las muestras de las raciones y de bloques fueron secadas (55 °C), molidas (1 mm). Se utilizaron frascos (100 ml), el tratamiento control y los tratamientos considerando como sustrato una relación 70:30 (forraje:concentrado), a los cuales se les añadió el 10 y 20% de bloque de acuerdo al tratamiento siendo el primer porcentaje el equivalente al consumo promedio de bloque en el ensayo *in vivo*, manteniendo 500 mg por cada frasco. Los inóculos consistieron en líquido ruminal de dos borregos (34 ± 1.6 kg PV) alimentados en una relación 50:50 forraje: concentrado de la ración. Los frascos fueron incubados en condiciones anaeróbicas con 90 ml de un inóculo

diluido (1:10) de bacterias ruminantes obtenidas de corderos en ayuno. Los frascos fueron herméticamente sellados e incubados a 39 °C por 72 h en baño maría. El volumen de gas producido fue registrado a las 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 42, 48, 60 y 72 h, al final de la fermentación la materia residual (MS) se utilizó para calcular la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) a las 72 h de incubación, los tratamientos fueron incubados por triplicado. Los valores de presión fueron transformados a volumen de gas con la ecuación de regresión lineal $V = (P + 0.0186) (0.0237)^{-1}$, posterior se estimaron los parámetros de cinética de producción de gas: volumen máximo de gas (V_m ; ml g⁻¹ MS de sustrato), tasa de producción de gas (S ; h⁻¹) y tiempo lag de la fermentación (L ; h), con el modelo: $V_o = V_m / (1 + e^{(2-4 \cdot S \cdot (t-L))})$ (Menke y Steingass, 1988).

El CH₄ y el CO₂ *in vitro* se estimaron a partir del volumen máximo de gas y los ácidos grasos de cadena corta se calcularon con la ecuación de Getachew et al., (2002) usando la proporción de factores estequiométricos de 0.538 mmol para CO₂ y 0.348 mmol de CH₄ descritas para estudios *in vitro* (Blümmel et al., 1997).

Análisis estadístico. Los resultados de las variables productivas se analizaron mediante un Diseño Completamente al Azar con mediciones repetidas en tiempo (dos períodos) y las medias fueron comparadas con la prueba Tukey con un alfa de $P \leq 0.05$, usando el JMP (Herrera y García, 2010).

Los resultados del experimento *in vitro* se analizaron de acuerdo a un Diseño Completamente al Azar y se probaron los efectos lineal y cuadrático del nivel de inclusión de bloque (Steel et al., 1997). El nivel de bloque que promovía la máxima producción CH₄ y CO₂ se estimó a partir de la segunda derivada de la ecuación cuadrática (Myers, 1971).

Finalmente se realizó una correlación de variables evaluadas *in vitro* e *in vivo* (Steel et al., 1997).

RESULTADOS

La composición de las raciones se muestra en el Cuadro 1 donde se confirman las diferencias en nutrientes, destacando que para el periodo de mantenimiento el contenido de proteína fue menor que en el periodo de crecimiento (9.36 vs. 13.75 %) con cambios en otros elementos asociados a la ración forraje concentrado. La composición de los bloques se muestra en el cuadro 2 donde se aprecian diferencias en el contenido de proteína.

Respuesta productiva

Durante el período de mantenimiento (Cuadro 3) no se observaron diferencias significativas para las variables peso final, consumo de la ración y de bloque ($P>0.05$), pero si para ganancia diaria de peso donde los tratamientos suplementados obtuvieron limitadas ganancias a diferencia del tratamiento sin suplementar, donde los corderos mostraron pérdidas de peso ($P=0.012$).

Cuando los corderos recibieron la ración de crecimiento, se observaron diferencias ($P<0.05$) en consumo (ración y bloque) con diferencias en la ganancia de peso, donde el grupo sin suplemento tuvo las menores ganancias de peso (Cuadro 3). La eficiencia de utilización del alimento fue mayor para los tratamientos con bloque, siendo el bloque (0:0:0) el de mejor respuesta que sin bloque ($P=0.063$).

Emisiones de metano y dióxido de carbono

La emisión diaria de CH₄ y CO₂ se redujo ($P < 0.05$) con el bloque (0:0:0) que tuvo mayor concentración de proteína y con el tratamiento basal en el periodo de crecimiento. A pesar de que la emisión diaria del tratamiento (3:0.75:0.25) fue mayor, al mejorar la ganancia de peso y reducir el tiempo de engorda el impacto global de metano y dióxido de carbono es menor (Cuadro 5). La suplementación con bloques en promedio reduce el metano en un 68.2% y el dióxido de carbono en 63.7%.

Cinética de gas in vitro

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca del tratamiento (3:0.75:0.25) se incrementó en forma lineal al aumentar la proporción de bloque ($P=0.05$) y efecto cuadrático para las variables volumen de gas, tasa de producción y tiempo lag ($P<0.0001$). En el bloque sin productos herbales (0:0:0) las variables CH₄ y CO₂ presentaron una respuesta cuadrática a medida ($P<0.05$) y la concentración máxima de gases se estimó con 9.5 % de inclusión de bloque.

DISCUSIÓN

Los resultados indican que el nivel de proteína en la ración tiene un efecto importante en el crecimiento; con efecto limitante en raciones de mantenimiento sobre la ganancia diaria de peso, coincidiendo con resultados de Dabiri y Thonney, (2004) donde los corderos mostraron respuesta lineal en la ganancia diaria de peso y peso final al aumentar el nivel de proteína en la dieta. Los resultados son similares a los de Kaya et al., (2009) quienes observaron menores ganancias de peso con 10% de proteína cruda en comparación con 13% de proteína. Además, al aumentar el nivel de proteína se mejora el consumo, reflejándose en mayores nutrientes (Hatfield et al., 1998)

En el periodo de crecimiento el consumo mejoró, siendo menor con el tratamiento que carecía de productos herbales y en el grupo sin suplemento. Algunos nutrientes pudieron estimular el consumo; la colina ha mejorado el consumo en ganado lechero (Zom et al., 2011), pero otros no, por ejemplo, los aminoácidos en rumiantes no tienen impacto en consumo; Beaty et al., (1994) suplementaron con lisina protegida a vacas y no se modificó el consumo. Los efectos de aportar diversos nutrientes se detectan en los cambios de peso. Experimentos con nutrientes evaluados muestran que cada uno puede tener impacto, por ejemplo, Alonso-Meléndez et al., (2016) suplementaron cabras lactantes con metionina protegida y observaron una respuesta lineal a la dosis en el peso vivo.

La conversión fue menos eficiente para el tratamiento sin suplementar y no se detectaron diferencias entre suplementos, presumiblemente por el reducido número de repeticiones, sin embargo, en un experimento donde se incluyó Biocolina con o sin metionina protegida, Rodríguez-Guerrero et al., (2018) tampoco detectaron diferencias en la eficiencia de utilización del alimento en corderos en crecimiento lo que atribuyeron a una deficiencia de lisina en la dieta; la relación lisina metionina fue mantenida 3:1 en este experimento al formular bloques con productos herbales.

La digestibilidad no presentó diferencias significativas en el ensayo *in vivo*. Sánchez et al., (2012) con metionina protegida suplementando dietas con rastrojo tratado tampoco encontraron cambios en ovinos y Rodríguez-Guerrero et al., (2018) al incluir metionina protegida y BioColina tampoco, sin embargo; existe un reporte de incrementos en la digestibilidad en respuesta al suministro de colina (El-Gendy et al., 2012).

En el ensayo *in vitro* al suplementar con la combinación de productos herbales (3:0.75:0.25) la digestibilidad se incrementó. Hay pocas evaluaciones de estos productos *in vitro*, Nam et al., (2014) no tuvieron diferencias en digestibilidad con lisina y metionina protegidas lo cual se puede explicar porque los aminoácidos son degradados por las bacterias. Sin embargo, la Biocolina aporta conjugados totales de colina en forma de fosfolípidos y las bacterias Gram-negativas tienen fosfatidilcolina (Aktas et al., 2010) y además los productos herbales contienen otros metabolitos; Mendoza et al., (2018) reportaron más de 100 metabolitos en cada uno de estos productos herbales entre los que destacan α -Phellandrene, α -ionone, Trans-2-Undecenal, 2 Pentanol and Z 2 Octenal y 4-vinylguaiacol con propiedades bacteriostáticas, bactericidas, antioxidantes y antinflamatorias (Esatbeyoglu et al., 2015; An et al., 2017) que deben estudiarse sus efectos en los microorganismos ruminantes.

Beauchemin et al., (2008) indican que el uso de algunas plantas que contienen metabolitos secundarios pueden reducir la producción de metano. A pesar de que la producción de metano y CO₂ para el bloque con productos herbales (3:0.75:0.25) fue mayor, la estimación de gases de efecto invernadero debe de hacerse en forma global dado que al mejorar el consumo y la ganancia se reducen los días de emisión; Charmley et al., (2008) confirman que si se reducen los días al sacrificio por mejor crecimiento asociado a calidad de la dieta, se impacta en las emisiones totales de gases lo que coincide con los resultados de este estudio.

CONCLUSIÓN

La inclusión de fuentes herbales puede ser utilizado en bloques para suplementar corderos en crecimiento. Es importante que las raciones cumplan los requerimientos de proteína y energía, pues los bloques pueden ayudar en condiciones limitantes pero no compensan totalmente raciones de baja calidad. La suplementación con bloques permite reducir las emisiones de metano y dióxido de carbono al reducir el tiempo de engorda por lo que se puede impactar significativamente en las emisiones de gases efecto invernadero.

Agradecimientos. Se agradece a TechnoFeed México, Nuproxa Switzerland, Indian Herbs la donación de los productos herbales

Los autores no tienen conflictos de intereses en este trabajo.

REFERENCES

- Abdi-Benemar H, Dehghan-Banadaky M, Rezayazdi K, Abdollahi Y (2016). The Comparison of the Amount of Methionine Supply by Different Rumen-Protected Methionine Sources. *Journal of Agricultural Science and Technology* 18: 1773-1780.
- Aktas, M., Wessel, M., Hacker, S., Klüsener, S., Gleichenhagen, J., & Narberhaus, F. (2010). Phosphatidylcholine biosynthesis and its significance in bacteria interacting with eukaryotic cells. *European journal of cell biology*, 89(12), 888-894.
- Alonso-Mélendez E, Mendoza GD, Castrejón-Pineda FA, Ducoing-Watty AE (2016). Milk production in dairy goats supplemented with different levels of ruminally protected methionine. *Journal of Dairy Research* 83: 148-150.

An FL, Sun DM, Li RJ, Zhou MM, Yang MH, Yin Y, Kong LY, Luo J (2017). Walrobsins A and B, Two Anti-inflammatory Limonoids from Root Barks of Walsura robusta. *Organic letters* 19: 4568-4571.

AOAC, 1995. *Association of Official Analytical Chemists. Methods of Analysis.* Washington D.C., USA.

ARC. 1980. *The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock.* Common wealth Agricultural Bureax, Surrey, UK.

Ardalan M, Rezayazdi K, Dehghan-Banadaky M (2010). Effect of rumen-protected choline and methionine on physiological and metabolic disorders and reproductive indices of dairy cows. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 94. DOI: 10.1111/j.1439-0396.2009.00966.x

Awawdeh MS (2016). Rumen-protected methionine and lysine: effects on milk production and plasma amino acids of dairy cows with reference to metabolisable protein status. *Journal of Dairy Research* 83: 151-155.

Beaty JL, Cochran RC, Lintzenich BA, Vanzant ES, Morrill JL, Brandt RT, Johnson DE (1994). Effect of frequency of supplementation and protein concentration in supplements on performance and digestion characteristics of beef cattle consuming low-quality forages. *Journal of Animal Science* 72: 2475-2486.

Beauchemin KA, Kreuzer M, O'mara F, McAllister TA (2008). Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48: 21-27.

Blümmel M; Steingaß H, Becker K (1997). The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and ¹⁵N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition* 77: 911-921.

Briceño PEG, Ruiz GA, Chay CAJ, Ayala BAJ, Aguilar PCF, Solorio SFJ, Ku VJC 2012. Voluntary intake, apparent digestibility and prediction of methane production by rumen stoichiometry in sheep fed pods of tropical legumes. *Animal Feed Science and Technology* 176: 17-122.

Cambrà-López M, García-Rebollar P, Estellés F, Torres A (2008). Estimación de las emisiones de los rumiantes en España: El Factor de Conversión de Metano. *Archivos de Zootecnia* 57: 89-101.

Charmley E, Stephens ML, Kennedy PM (2008). Predicting livestock productivity and methane emissions in northern Australia: development of a bio-economic modelling approach. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48: 109-113.

Cole LK, Vance JE, Vance DE (2012). Phosphatidylcholine biosynthesis and lipoprotein metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids* 1821: 754-761.

Dabiri N, Thonney ML (2004). Source and level of supplemental protein for growing lambs. *Journal of animal science* 82: 3237-3244.

El-Gendy ME, El-Riedy KF, Sakr HS, Gaafar HM (2012). Effect of rumen protected methionine and/or choline additives on productive performance of Zaraibi goats. *Nature and Science* 10: 35-41.

Esatbeyoglu T, Ulbrich K, Rehberg C, Rohn S, Rimbach G (2015). Thermal stability, antioxidant, and anti-inflammatory activity of curcumin and its degradation product 4-vinyl guaiacol. *Food Functional* 6: 887-893.

FrAnKIČ T, Voljč M, Salobir J, Rezar V (2009). Use of herbs and spices and their extracts in animal nutrition. *Acta agriculturae slovenica* 94: 95-102.

Getachew G, Makkar HPS, Becker K (2002). Tropical browses: contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. *The Journal of Agricultural Science* 139: 341-352.

Han Y, Qu Y, Yuan X, Wang Z, Yin X, Li W., Pan Q, Wang G, Gao Y (2016). Effects of Rumen-Protected Methionine and Lysine Supplementation on Growth Performance and Carcass Chemical Composition of Holstein Bulls. *Chinese Journal of Animal Nutrition* 2: 015.

Hatfield PG, Hopkins JA, Ramsey WS, Gilmore A (1998). Effects of level of protein and type of molasses on digesta kinetics and blood metabolites in sheep. *Small Ruminant Research* 28: 161-170.

Hernández LAN, Bautista BS, Velázquez del Valle MG (2007). Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30: 119-123.

Hernández PA, Mendoza GD, Castro A, Lara A, Plata FX, Martínez JA, Ferraro S (2001). Effects of grain level on lamb performance, ruminal metabolism and leptin mRNA expression in perirenal adipose tissue. *Animal Production Science* 57: 2001-2006.

Hernández-Reyes JC, Lara-Bueno A, Miranda-Romero LA, Mendoza GD, Martínez D. (2017). *Evaluación de Productos Herbales como aditivos en raciones de finalización de ovinos*. XVIII Congreso Bienal Amena. Puerto Vallarta Jal.

Herrera J.G. y García C. 2010. Bioestadística en Ciencias Veterinarias, Procedimientos de análisis de datos con SAS. Editorial Universidad Complutense de Madrid.

IPCC (2007). Fourth Assessment Report: *Climate Change. Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge.

Kaya I, Unal Y, Sahin T, Elmali D (2009). Effect of different protein levels on fattening performance, digestibility and rumen parameters in finishing lambs. *Journal Animal Veterinary Advances* 8: 309-312.

Keulen V, Young BA. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science* 44: 282-287.

Mao HL, Wang JK, Zhou YY, Liu JX (2010). Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. *Livestock Science* 129: 56-62.

Mendoza GD, Oviedo MF, Pinos JM, Lee-Rangel HA, Vázquez A, Rojo R, Guerrero ML, Pérez F (2018). Milk production in dairy cows supplemented with herbal choline and methionine. In press.

Menke KH, Steingass H (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research Development Journal* 27:7-55.

Myers RH (1971). *Response surface methodology*. Library of Congress. United States of America; p 68.

Nam, I. S., Choi, J. H., Seo, K. M., & Ahn, J. H. (2014). In vitro and lactation responses in mid-lactating dairy cows fed protected amino acids and fat. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 27(12), 1705.

Niculescu MD, Zeisel SH (2002). Diet, methyl donors and DNA methylation: interactions between dietary folate, methionine and choline. *The Journal of nutrition* 132: 2333S-2335S.

NRC (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids, First ed. National Research Council, National Academic Science, Washington, DC, USA.: p 292.

Orskov ER, Flatt WP, Moe PW (1968). Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of volatile fatty acid formation in ruminants. *Journal of Dairy Science* 51: 1429–1435.

Patton RA (2010). Effect of rumen-protected methionine on feed intake, milk production, true milk protein concentration, and true milk protein yield, and the factors that influence these effects: A meta-analysis. *Journal of dairy science* 93: 2105-2118.

Rodríguez-Guerrero V, Lizarazo AC, Ferraro S, Suárez N, Miranda LA, Mendoza GD (2018). Effect of herbal choline and rumen-protected methionine on lamb performance and blood metabolites. *South African Journal of Animal Science* 48 DOI 10.4314/sajas.v48i1.16. Accepted Article

Sall, J, Lehman A, Stephens M, Creighton L (2012). JMP® start statistics: a guide to statistics and data analysis.5th ed. SAS Institute Inc.: Cary, NC.

Sánchez AE, Ortega CME, Mendoza MGD, Montañez VOD, Buntinx DSE (2012). Rastrojo de maíz tratado con urea y metionina protegida en dietas para ovinos en crecimiento. *Interciencia* 37: 395-399.

Sinclair KD, Garnsworthy PC, Mann GE, Sinclair LA (2014). Reducing dietary protein in dairy cow diets: Implications for nitrogen utilization, milk production, welfare and fertility. *Animal* 8: 262-274.

Steel GDR, Torrie JH, Dickey DA (1997). *Principles and procedures of statistics. A biometrical approach*: McGraw-Hill. New York; p 637.

Tsiplakou E, Mavrommatis A, Kalogeropoulos T, Chatzikonstantinou M, Koutsouli P, Sotirakoglou K, Labrou N, Zervas G (2017). The effect of dietary supplementation with rumen-protected methionine alone or in combination with

rumen-protected choline and betaine on sheep milk and antioxidant capacity.

Journal of animal physiology and animal nutrition 101: 1004-1013.

Unal Y, Kaya I, Oncuer A (2005). Use of urea – molasses mineral blocks in lambs fed with straw. *Revue Medicine Veterinary* 156: 217-220.

Usman FM, Siddiqui MM, Habib G (2004). Effect urea – molasses block supplementation on nutrient digestibility and intake of ammoniated maize stovers in cow – calves. *Pakistan Veterinary Journal* 24: 13-17.

Van Soest PJ (1994). *Nutritional ecology of the ruminants*. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press. Ithaca USA and London UK.

Wolin JM (1960). A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of Dairy Science*. 40: 1452-1459.

Zom RLG, Van Baal J, Goselink RMA, Bakker JA, De Veth MJ, Van Vuuren AM (2011). Effect of rumen-protected choline on performance, blood metabolites, and hepatic triacylglycerols of periparturient dairy cattle. *Journal of dairy science* 94: 4016-4027.

Tabla 1. Formulación de bloques experimentales (Biocolina: lisina: metionina)

	(0:0:0)	(3:0:0)	(3:0.75:0.25)
Melaza	40	40	40
Maíz molido	9.85	9	9
Pasta de soya	10	5	5
Urea	10	10	10
Cemento	5.15	5.85	4.85
Premezcla mineral	6	6	6
Cal	5	4	4
Sulfato de sodio	0	1	1
Ovi3 ways	0	0.15	0.15
Rastrojo maíz	13	13	13
Biocolina	0	3	3
Propionato de sodio	0	1	1
Hexametafosfato de sodio	0	2	2
Metionina	0	0	0.25
Lisina	0	0	0.75
Sal	1	0	0
TOTAL	100	100	100

Vitasal Engorda Ovinos Plus®: Ca 270 g, P 30 g, Mg 7.5 g, Na 65.5 g, Cl 100, K 0.5 g, S 42 mg, Lasolacida 2000 mg, Mn 2000 mg, Zn 3000 mg, Se 20 mg, Co 15 mg, vitamina A 35,000 UI, vitamina D 150,000 UI y vitamina E 150 UI.

Tabla 2. Composición química de los bloques, periodo de mantenimiento y crecimiento

	Ración basal		Bloques (Biocolina: lisina: metionina) %		
	Mantenimiento	Crecimiento	(0:0:0)	(3:0:0)	(3:0.75:0.25)
MS, %	95.09	89.75	93.98	95.46	89.36
MO, %	94.90	95.41	80.89	77.02	78.42
Cenizas, %	5.10	4.59	19.11	22.98	21.58
PC, %	9.36	13.75	40.63	35.13	39.87
FDN, %	48.71	48.20	17.04	13.63	18.68
FDA, %	21.19	17.06	5.66	3.66	7.59
EE, %	1.47	2.06	2.44	1.31	0.55
ME Mcal/kg		2.73	2.96	2.89	2.99

MS: materia seca; MO: materia orgánica; PC: proteína cruda; FDN: fibra detergente neutro;

FDA: fibra detergente ácida; EE: extracto etéreo; EM: energía metabolizable, 100%

requerimiento NRC.

Tabla 3. Respuesta productiva en periodos mantenimiento y crecimiento, estimación CH₄, CO₂

	Ración basal	(0:0:0)	(3:0:0)	(3:0.75:0.25)	EEM	P
<i>Mantenimiento</i>						
Peso inicial, kg	16.31	15.81	15.31	15.08	0.62	0.845
Peso final, kg	15.7	17.28	16.08	16.67	0.73	0.831
CMS, kg	0.542	0.512	0.466	0.529	0.81	0.729
Consumo bloque, g/d	0	86.63	74.88	83.88	0.84	0.0001
Consumo total, kg	0.542	0.598	0.541	0.613	0.85	0.720
GDP, g	-0.25 ^b	46 ^a	24 ^{ab}	49 ^a	0.86	0.012
<i>Crecimiento</i>						
Peso inicial, kg	16.90	16.88	16.87	16.90	1.25	1.000
Peso final, kg	23.56 ^b	25.78 ^{ab}	26.91 ^{ab}	27.67 ^a	0.50	0.0001
CMS, kg	1.02	0.95	0.99	1.08	0.07	0.0001
Consumo bloque, g/d	0.00	138.3	104.43	94.19	0.02	0.0001
Consumo total, kg	1.121 ^{ab}	0.945 ^b	1.084 ^{ab}	1.222 ^a	0.001	0.0001
GDP, g	134 ^b	198 ^{ab}	200 ^{ab}	215 ^a	0.50	0.003
CA	10.41 ^a	4.78 ^b	5.97 ^{ab}	5.88 ^{ab}	0.57	0.063
Digestibilidad, %	75.67	81.98	79.92	82.67	0.95	0.341
CH ₄ , g/d	0.638 ^b	0.555 ^b	0.666 ^{ab}	0.776 ^a	0.002	0.0001
CO ₂ , g/d	2.532 ^b	2.203 ^b	2.647 ^{ab}	3.080 ^a	0.002	0.0001

Consumo de materia seca (CMS), ganancia diaria de peso (GDP), conversion alimenticia (CA),

metano (CH_4), dioxido de carbono (CO_2), ^{abc}Literales diferentes en la fila son diferentes ($P<0.05$)

Tabla 4. Respuesta de cinética de gas (0:0:0, 3:0:0, 3:0.75:0.25)

	Vm, ml	s, h ⁻¹	Lag, h	DIVMS, %	CH ₄ , mol	CO ₂ , mol
Ración basal	348.1	0.0307	2.54	63.59	43.112	182.87
(0:0:0)						
10%	369.80	0.326	2.49	64.47	45.801	194.28
20%	325.43	0.034	3.07	65.69	40.303	170.95
<i>Lineal</i>	0.23	0.18	0.91	0.16	0.03	0.03
<i>Cuadrático</i>	0.74	0.03	0.02	0.98	0.01	0.01
(3:0:0)						
10%	358.53	0.031	2.02	65.13	44.405	188.35
20%	354.33	0.033	2.46	66.77	43.885	186.15
<i>Lineal</i>	0.10	0.03	0.80	0.33	0.38	0.38
<i>Cuadratico</i>	0.79	0.07	0.29	0.22	0.37	0.37
(3:0.75:0.25)						
10%	355.37	0.030	2.10	66.34	44.013	186.69
20%	356.13	0.033	2.32	65.01	44.108	187.09
<i>Lineal</i>	0.26	0.02	0.08	0.05	0.53	0.53
<i>Cuadrático</i>	0.004	0.0005	0.0009	0.71	0.76	0.76
EEM	0.0005	0.150	0.626	0.114	0.569	0.569

^{abc} Literales diferentes dentro de la fila son diferentes ($P < 0.05$); Vm: volumen maximo de gas, s: tasa de producción de gas, Lag: fase lag, DIVMS: digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

Table 5. Estimación de gases efecto invernadero utilizando distintos bloques multinutricionales

	Ración basal	(0:0:0)	(3:0:0)	(3:0.75:0.25)
Peso inicial	16.89	16.89	16.89	16.89
Peso al mercado	45	45	45	45
Días para llegar	209.8	142.0	140.6	130.8
CH ₄ , g/d	133.85	78.80	93.61	101.47
CO ₂ , g/d	531.20	312.79	372.07	331.07

**EVALUACIÓN DE BLOQUES MULTINUTRICIONALES Y MINERALES EN
DIETA BASADAS EN RASTROJO DE MAÍZ (*Zea maíz*) PARA CORDEROS EN
CRECIMIENTO**

**EVALUATION OF MULTINUTRIENT AND MINERAL BLOCKS IN CORN (*Zea
maiz*) STOVER-BASED DIETS FOR GROWING LAMBS**

Nallely Sánchez López¹, Germán Mendoza Martínez¹, José Antonio Martínez García², Luis Alberto Miranda Romero³, Pedro Abel Hernández García⁴, Oscar A. Villarreal Espino Barros^{*5}

RESUMEN

La respuesta productiva a bloques multinutricionales no siempre es la esperada debido que estos se formulan sin considerar las necesidades nutricionales ni los nutrientes consumidos por lo que se hipotetizó que al formular los bloques con base a requerimientos y composición de la dieta basal se podría mejorar el comportamiento productivo de corderos en crecimiento. Se utilizó un Diseño Completamente al Azar con 28 corderos en crecimiento Katahdin x criollo por 43 días con cuatro tratamientos con 7 repeticiones (borrego unidad experimental). Los tratamientos: 1) Ración basal con 70% rastrojo de maíz y 30% grano; 2) Ración basal + bloque mineral comercial; 3) Ración basal + bloque proteico comercial; y 4) Ración basal + bloque multinutricional formulado; se registraron variables *in vivo* productivas y patrón de

¹ Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, Ciudad de México.

² Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, Ciudad de México.

³ Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma de Chapingo, Texcoco, Estado de México.

⁴ Centro Universitario UAEM Amecameca, Universidad Autónoma del Estado de México, Amecameca, Estado de México.

⁵ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Tecamachalco, Puebla.

Autor correspondencia: oscar.villarrealeb@hotmail.com

fermentación. Los tratamientos fueron evaluados *in vitro* (cinética de producción de gas por 72 h) e *in situ* (digestibilidad de la materia seca). El consumo de materia seca y la eficiencia alimenticia fueron similares entre tratamientos ($p > 0.05$) pero el uso de bloques aumentó ($p \leq 0.05$) las ganancias diarias de peso y la digestibilidad. El consumo fue menor con el bloque mineral, medio para multinutricional y alto para proteico ($p < 0.05$). El bloque multinutricional aumentó la proporción de propionato y la concentración de N amoniacal mientras que pH ruminal no se modificó. La producción de gas *in vitro* fue mayor con el bloque proteico. La digestibilidad *in situ* de la materia seca a las 48 h se incrementó con todos los bloques. Se concluye que la suplementación con bloques mejora la digestibilidad y la ganancia de peso la mejor respuesta se observó con los de mayor contenido de proteína y que el formular el bloque con base a los requerimientos mejora la conversión alimenticia.

Palabras clave: bloques multinutricionales, digestibilidad, formulación, nutrición animal, ovinos.

INTRODUCCIÓN

El uso de bloques permite suplementar nutrientes de forma continua y gradual, y mejorar la eficiencia de uso de la fibra detergente neutro (FDN) en dietas de baja calidad (Mijares-López *et al.*, 2012); al incrementar la digestibilidad y mejorar la fermentación ruminal (Yueming *et al.*, 2005); lo que contribuye a una mejora general en la producción (Sudana y Leng, 1986; Garg y Gupta, 1992).

La mayoría de los bloques se formularon con las recomendaciones de la FAO (Sansoucy *et al.*, 1988) que no consideran los requerimientos específicos de cada etapa fisiológica ni entre especies de rumiantes, tampoco consideran el consumo ni la ración basal (RB) (Zervas *et al.*, 2001) la cual varía dependiendo de la época del año y la región (Haenlein y Ramírez, 2007); y los niveles recomendados de óxido de calcio en el bloque de la FAO, así como la

poca atención del posible desequilibrio de la relación calcio/fósforo. El objetivo de este estudio fue comparar un bloque multinutricional formulado de acuerdo a los requerimientos de nutrientes de corderos que considera la composición de la ración basal contra dos bloques comerciales, un proteico y otro mineral, para contrastar el crecimiento de corderos alimentados con dietas de baja calidad. La formulación de bloques minerales y multinutricionales basados en un diagnóstico nutricional permitirá mejorar la respuesta productiva de los corderos debido a cambios en la digestibilidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Experimento de crecimiento *in vivo*

El Comité para el Cuidado y Uso de Animales del Programa de Doctorado en Producción Animal y Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma Metropolitana, Campus Xochimilco, aprobó los procedimientos para este estudio. Este se realizó en las instalaciones de experimentación del Centro Universitario UAEM Amecameca de la Universidad Autónoma del Estado de México. Se utilizaron 28 animales (23.54 ± 0.06 kg de peso vivo (PV); Katahdin x criollo), alojados individualmente (85 cm^2 de espacio cordero $^{-1}$), siguiendo un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos (n=7 borregos por tratamiento): 1) control, ración basal (RB) *ad libitum*, con base en materia seca (MS) consistió 70 % rastrojo maíz (molido a tamaño de partícula de 2.0 cm) y 30 % mezcla de grano (15 % maíz quebrado y 15 % maíz molido); 2) La RB con bloque mineral plus (MNA S.A. de C.V., México) *ad libitum*, 3) La RB con bloque proteico plus (MNA S.A. de C.V., México) *ad libitum*, y 4) Bloque multinutricional formulado con los requerimientos deseados para los corderos en crecimiento para ganancias diarias de 100 g (NRC, 2007) con una relación Ca:P de 2:1, que guiaron la formulación de los bloques multinutricionales (Cuadro 1). Con base en esta formulación, se estimó la composición química de los bloques experimentales (Cuadro 2).

Cuadro 1. Ingredientes del bloque multinutricional (% inclusión).

Ingredientes	% Inclusión
Melaza de caña	45.00
Rastrojo de maíz	15.00
Pasta de soya	4.00
Cebolla deshidratada	0.50
Urea	10.00
Cemento	3.00
Cloruro de sodio	1.00
Mineral premezcla A ○	6.00
Oxido de calcio	7.00
Mineral premezcla B □	1.00
Levadura de cromo	0.15
Metionina ruminalmente protegida Δ	1.00
Propionato de calcio	1.00
Biocolina	1.00
BHT	0.20
Ácido fosfórico	3.00
Sulfato de sodio	1.00
Mineral premezcla C •	0.15
TOTAL	100.00

○Vitasal Engorda Ovinos Plus®: Ca 270 g, P 30 g, Mg 7.5 g, Na 65.5 g, Cl 100 g, K 0.5 g, S 42 mg, lasalocid 2000 mg, Mn 2000 mg, Zn 3000 mg, Se 20 mg, Co 15 mg, vitamina A 35,000 UI, vitamina D 150,000 UI y vitamina E 150 UI. □Biotecap: Ca 1.88%, P 2.20%,

Mg 1.40%, Na 0.035 %, Cl 0.15 %, Se org 18.65 ppm, Cr org 5 ppm, Cu org 500 ppm, Zn org 2050 ppm, Mn org 215 ppm, Co org 13.50 ppm, I org 23.80 ppm, Fe org 5000 ppm, levadura viva 5% (*Saccharomyces cerevisiae* 2×10^{10} CFU / g). ΔMepron metionina ruminalmente protegida, Evonik, México. • Ovy ways®: Se 590 ppm, Cr 990 ppm, Cu 1500 ppm, Zn 300 ppm, Mn 3000 ppm, Co 30 ppm, I 30 ppm, levadura viva 1.0×10^9 UFC/g, vitamina E 40 UI.

Los corderos recibieron una desparasitación con Closantel (5 mg kg⁻¹ de PV), vacunados para *Clostridium perfringens* tipo C y D, *Clostridium novyi*, *sordellii*, *chauvoei* y *septicum* (Ultrabac 7) y dosis con vitaminas A, D y E (Vigantol, Bayer; 2 mL cordero⁻¹). Los corderos recibieron alimento y agua limpia *ad libitum* con un periodo de cinco días de adaptación a las dietas experimentales.

El consumo diario de alimento y bloque se obtuvieron por diferencia del ofrecido y rechazado, además de determinar la ganancia diaria de peso (GDP) y la conversión alimenticia (CA). Los corderos se pesaron dos días consecutivos al inicio (día 0 y 1) y al final del experimento (día 42 y 43). Se ofreció el alimento a las 8:00 y 15:00 h. Las muestras fecales se colectaron durante cuatro días a partir del día 28, para estimar la digestibilidad de la MS aparente, mediante las cenizas ácido insolubles como marcador interno (Van Keulen y Young, 1977).

Los alimentos se analizaron para obtener la composición química (Cuadro 3), se determinó materia seca, cenizas, extracto etéreo y nitrógeno de acuerdo a AOAC (1990), fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA) (Van Soest *et al.*, 1991).

Cuadro 2. Contenido de nutrientes de los bloques experimentales.

Variables, unidad	Mineral	Proteico	Multinutricional
Proteína cruda (%)	-	30.0	28.97
Extracto etéreo (%)	-	0.9	0.26
Ca (%)	8.5	2.5	8.5
P (%)	9.0	1.3	1.38
Mg (%)	1.2	-	0.47
K (%)	-	0.8	1.46
Na (%)	-	6.9	1.31
S (%)	-	-	0.43
Cu (%)	520	-	70.77
I (mg kg ⁻¹)	96	-	8.42
Fe (mg kg ⁻¹)	740	-	1505.52
Mn (mg kg ⁻¹)	2030	-	304.82
Se (mg kg ⁻¹)	10	-	4.55
Zn (mg kg ⁻¹)	2600	-	522.78
Co (mg kg ⁻¹)	12	-	5.76
Vitamina A (UI kg ⁻¹)	210000	107600	30196
Vitamina D (UI kg ⁻¹)	27500	26400	18000
Vitamina E (UI kg ⁻¹)	32	30	62.28

Cuadro 3. Composición química de la dieta basal y bloques (base MS).

Variables, unidad	Ración basal	Bloques		
		Mineral	Proteico	Multinutricional
Materia seca (%)	91.07	97.07	94.22	91.62
Cenizas (%)	6.00	67.51	24.18	27.58
Proteína cruda (%)	8.60	5.53	31.78	32.80
FDN (%)	62.39	12.82	22.28	11.16
FDA (%)	35.25	1.40	6.37	3.02
Extracto etéreo (%)	1.47	1.66	1.84	2.12

FDN: Fibra detergente neutra; FDA: Fibra detergente ácida

El líquido ruminal (50 mL) se extrajo el día 43 a las 7:00 h (los corderos tuvieron 16 h de ayuno), se acidificó con 1 mL de ácido sulfúrico (300 g L⁻¹) y se almacenó en congelación a menos 20 °C para su posterior análisis de ácidos grasos volátiles (AGV) por cromatografía de gases (Erwin *et al.*, 1961) y nitrógeno amoniacial (N-NH₃) (Dominguez *et al.*, 2009).

Producción de gas *in vitro*

Las muestras de RB y bloques se secaron (55 °C), molieron (1 mm) y mezclaron 0.5 kg de acuerdo a la proporción del ensayo, se obtuvieron cuatro mezclas (tratamientos) usadas para estimar los efectos de los bloques sobre los parámetros de producción de gas, mediante un Diseño Completamente al Azar. En frascos ámbar de 100 mL de capacidad se prepararon 500 mg de MS de las raciones experimentales con cuatro repeticiones por tratamientos. El líquido ruminal para la elaboración del inóculo se obtuvo mediante una sonda esofágica, de dos ovinos adultos (34 ± 1.6 kg PV) alimentados con 50 % forraje y 50 % concentrado, ambos fluidos ruminiales se mezclaron y filtraron, enseguida se gaseó con CO₂. A continuación, se añadieron 10 ml de líquido ruminal libre de partículas a cada botella y se añadieron 80 mL de solución tampón usada por Goering y Van Soest (1970) bajo flujo continuo de CO₂ para

mantener las condiciones anaeróbicas. Cada matraz se cerró herméticamente con un tapón de goma y un anillo metálico y se incubó en baño maría a 38°C. La presión del gas se midió con un manómetro (modelo 63100, METRON, México) a 0, 2, 4, 6, 8, 10, 14, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 60 y 72 h de incubación. Se transformó los valores de presión a volumen de gas con la ecuación de regresión lineal $V = (P + 0.0186) / (0.0237)$. Se estimaron los siguientes parámetros para producción de gas: fase lag (h), volumen máximo (V_{max} ; mL $^{-1}$ g MS de sustrato) y tasa (S ; h $^{-1}$) de producción de gas con el modelo propuesto por Menke y Steingass (1988): $Vo = Vm / (1 + e^{(2-4*s*(t-L))})$.

Digestibilidad *in situ*

Se determinó siguiendo la técnica propuesta por Vanzant *et al.* (1998), se incubaron los tratamientos descritos, con bolsas de poliéster de 5 x 10 cm (\varnothing poro $52 \pm 10 \mu\text{m}$), 1 g por bolsa en triplicado por 24 y 48 h en el rumen de un borrego canulado (50 kg PV), una vez retiradas las bolsas se lavaron y secaron durante 24 h a 65 °C en una estufa de aire forzado para determinar la desaparición *in situ* de la MS.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron de acuerdo a un Diseño Completamente al Azar donde los tratamientos se consideraron como efectos fijos. Las medias se compararon con la prueba Tukey y las diferencias entre los tratamientos se consideró a $p \leq 0.05$ y tendencia a $p \leq 0.10$. Los datos se analizaron con el programa JMP 7 de SAS (Sall *et al.*, 2012).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron cambios ($p > 0.05$) en el consumo de la MS, eficiencia alimenticia y peso final (Cuadro 4). De acuerdo con Martínez-Martínez *et al.* (2012) la respuesta en ganancia de peso por los bloques ha variado de mantenimiento a ganancias moderadas y depende de los nutrientes en los bloques y en las raciones basales. Los resultados en este experimento indicaron que la limitación de nutrientes en dietas con rastrojo de maíz es

principalmente la proteína. En la formulación del bloque multinutricional se consideró la inclusión de aditivos para mejorar el estado energético del cordero, como el propionato de calcio (Mendoza *et al.*, 2016), levadura para mejorar digestibilidad (García *et al.*, 2000), selenio y cromo de fuentes orgánicas para estimular respuesta inmunológica (Dominguez *et al.*, 2009), cebolla deshidratada, la cual contiene alicina, un sulfuro contenido en compuestos orgánicos (Block, 1985) y metionina ruminalmente protegida, pero la falta de respuesta en el crecimiento podría deberse a la falta de lisina metabolizable (NRC, 2007) como se observó en otros experimentos con dietas a base de rastrojo de maíz (Sánchez *et al.*, 2012; Rodríguez-Guerrero *et al.*, 2018).

Todos los bloques mejoraron ($p = 0.006$) la digestibilidad *in vivo* y se obtuvo mejor respuesta con el bloque proteico 44.51%. La digestibilidad de MS mejoró en un 10.7% con bloques proteicos sin afectar el consumo. En algunos estudios, el consumo ha mejorado al suplementar con bloque (Faizi *et al.*, 2004; Yue-ming *et al.*, 2005). En este experimento la digestibilidad aumentó sin afectar el consumo, en contraste, con lo reportado por Yue-ming *et al.* (2005) la digestibilidad incrementó el 13.1% mejorando el consumo; en el experimento reportado por Faizi *et al.* (2004) el consumo mejoró cuando la digestibilidad *in vitro* de la MS aumentó un 11.39%.

El aumento de la digestibilidad puede asociarse con el contenido de proteína; la suplementación con nitrógeno de dietas a base de paja aumentó la digestibilidad asociada a incrementos en las zoosporas fúngicas y las bacterias celulolíticas como *Ruminococcus albus*, *Fibrobacter succinogenes* y *Ruminococcus flavefaciens* (Wanapat *et al.*, 2016), se ha reportado con el uso de diferentes bloques elaborados con urea, melaza y minerales (Yue-ming *et al.*, 2005). Por lo tanto, se plantea la hipótesis de que sólo cuando el impacto del bloque modifica sustancialmente la digestión se pueden esperar incrementos en la ingesta voluntaria.

Una respuesta positiva en la digestibilidad observada con el bloque mineral en este experimento también se puede atribuir a las bacterias ruminantes, estudios sobre requerimientos minerales de las bacterias indican un crecimiento de *F. succinogenes*, *R. albus* y *R. flavefaciens* en respuesta positiva al Mg, y de algunas bacterias amilolíticas al calcio (Morales y Dehority 2014). Dado que las dietas de baja calidad tienen minerales insuficientes para satisfacer las necesidades microbianas, la suplementación con bloques minerales estimula el crecimiento microbiano (De y Singh, 2003) lo que explica la respuesta positiva a bloques minerales.

El consumo fue bajo para bloques minerales, medio para multinutricional y alto para proteico (32.72, 96.54 y 172.95 g d⁻¹, respectivamente; Cuadro 4), coincidiendo con lo reportado por Mendoza *et al.*, (2017), donde los ciervos temazates tuvieron un consumo de bloque mineral de 6.7 g d⁻¹ y bloque proteico de 60.2 g d⁻¹. Distintos factores pueden afectar el consumo de bloques; el bajo consumo de bloque mineral puede ser explicado por la alta cantidad de cloruro de sodio utilizada en la formulación (normalmente 90%). Otro factor que puede afectar el consumo es la dureza; Forsberg *et al.*, (2002) reportaron que la dureza del bloque reduce el consumo en corderos de 50 a 179 g d⁻¹ a 8 y 20 g d⁻¹.

Con respecto al patrón de fermentación, el bloque multinutricional aumentó la proporción de propionato 24.9% ($p = 0.031$). El pH ruminal no se afectó por la suplementación de bloque ($p > 0.05$), y la concentración de N amoniacial en rumen fue alta con bloque proteico 9.0 mg L⁻¹ (Cuadro 4). Cherdthong *et al.*, (2014) también observaron que las concentraciones de propionato incrementaron *in vitro* con aumento en niveles de urea – sulfato de calcio en bloques. En este experimento la concentración de nitrógeno amoniacial fue alta, de forma

Cuadro 4. Respuesta productiva y variables de fermentación de ovinos alimentados con diferentes bloques.

Variables, unidad	Ración basal	Bloque				
		Mineral	Proteico	Multinutricional	EEM	P
<i>Respuestas productivas</i>						
Peso inicial (kg)	19.57	19.60	19.54	19.46	0.941	0.99
Peso final (kg)	20.66	21.43	24.34	22.57	0.612	0.39
Consumo de MS (g día ⁻¹)	723.94	748.18	717.18	771.44	0.727	0.83
GDP (g)	25 b	43 b	114 a	74 ab	0.203	0.005
Conversión alimenticia	15.28	45.18	46.26	14.33	0.379	0.71
Consumo de B (g día ⁻¹)	–	32.72 c	172.95 a	96.54 b	0.007	0.0001
Digestibilidad (%)	33.79 b	38.54 ab	44.51 a	41.90 a	0.081	0.006
<i>Variables de fermentación</i>						
pH	7.11	7.09	6.78	6.93	0.067	0.28
Total AGV (mmol L ⁻¹)	41.29 a	25.31 b	36.97 ab	35.52 ab	2.071	0.04
Acetato (%)	72.24	75.53	72.45	69.12	0.905	0.13
Propionato (%)	19.65 ab	16.48 b	19.51 ab	24.90 a	1.031	0.03
Butirato (%)	8.10	7.97	8.03	5.97	0.355	0.10
N-NH ₃ (mg L ⁻¹)	2.16 b	2.58 b	9.00 a	5.70 b	0.979	0.0006

EEM: error estándar de la media; MS: materia seca; GDP: ganancia diaria de peso; B: bloque.

Literales distintas dentro de la fila son diferentes ($p < 0.05$).

similar en un experimento *in vitro*, el nitrógeno amoniacial fue más alto con el uso de bloques que contenían urea, y el pH no fue alterado (Ampapon *et al.*, 2016). Estudios *in vivo* de

bloques con melaza y urea mostraron que los niveles de nitrógeno amoniacial se incrementaron (Sudana y Leng, 1986) por la hidrólisis de la urea.

La producción de gas *in vitro* se redujo con el bloque de proteína ($p \leq 0.05$), todos los bloques mejoraron la tasa de producción de gas (Cuadro 5). La digestibilidad *in situ* a las 24 y 48 h mejoró con los bloques proteínicos (49.91, 52.72 % a 24 y 48 h) y multinutricionales (52.72, 58.85 % a 24 y 48 h), mientras que los bloques minerales mostraron efectos positivos a las 48 h de incubación 54.70% (Cuadro 5).

Cuadro 5. Parámetros de la producción de gas *in vitro* y digestibilidad *in situ*, por efecto de la inclusión de bloques.

Variables, unidad	Ración	Bloque					P		
		Mineral	Proteico	Multinutricional	EEM				
basal									
<i>Producción de gas in vitro</i>									
Vol. Máx. (mL g ⁻¹)	349.48 a	320.75 ab	290.93 b	328.23 ab	0.113	0.03			
S (h ⁻¹)	0.034 b	0.037 ab	0.042 a	0.039 ab	0.689	0.32			
Fase Lag (h ⁻¹)	0.344	0.215	0.22	0.914	0.192	0.0001			
<i>Degradoación in situ</i>									
24 h (%)	41.68 b	41.95 b	49.91 a	52.72 a	0.853	0.0001			
48 h (%)	54.08 c	54.70 c	64.22 a	58.85 b	0.570	0.0001			

Vol. Max: Volumen máximo de producción de gas; S: Tasa de producción de gas; EEM: error estándar de la media. Literales distintas dentro de la fila son diferentes ($p < 0.05$).

La producción de gas *in vitro* puede aumentar con la suplementación de bloques (Yueming *et al.*, 2005), resultados similares de parámetros de producción de gas fueron observados con bloques con urea o proteína *in vitro* (Cherdthong *et al.*, 2014). El hecho de que la

producción de gas *in vitro* se redujo y la digestibilidad aumentó con bloques sugiere que los bloques estimularon la síntesis de proteína microbiana; sin embargo, esta variable no fue medida. Yue-ming *et al.* (2005) no encontraron diferencias en la fase Lag con bloques utilizando forrajes de baja calidad para la digestión de FDN *in situ*; otros estudios sobre el efecto de diferentes niveles de melaza:glicerol sobre el rendimiento no afectó el tiempo Lag de la digestión del forraje (Ciriaco *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

La suplementación con bloques mejoró el aumento de peso además de la digestibilidad de la ración. La formulación de los bloques modificó la respuesta de los corderos y fue mejor cuando se combinaron nutrientes orgánicos e inorgánicos. El uso de bloques formulados con base a los requerimientos nutricionales mejoró la eficiencia de la utilización de la alimentación y la proteína mostró ser el nutriente más importante en la respuesta productiva cuando se suplementó con bloques nutricionales.

AGRADECIMIENTOS

El primer autor agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, México) por el financiamiento de la investigación, a través de la beca número 272131.

LITERATURA CITADA

- Ampapon, T., M. Wanapat, and S. Kang. 2016. Rumen metabolism of swamp buffaloes fed rice straw supplemented with cassava hay and urea. *Trop. Anim. Health Prod.* 48: 779–784.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. *Official Methods of Analyses*, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA. pp: 75-76.
- Block, E. 1985. The chemistry of garlic and onions. *Sci. Am.* 251: 114–121.
- Cherdthong, A., M. Wanapat, W. Wongwungchun, S. Yeekeng, T. Niltho, D. Rakwongrit, W. Khota, S. Khantharin, G. Tangmutthapatharakun, K. Phesatcha, S. Foiklang, S. Kang, N. Anantasook, and P. Gunund. 2014. Effect of feeding feed blocks containing different levels of urea calcium sulphate mixture on feed intake, digestibility and rumen fermentation in Thai native beef cattle fed on rice straw. *Anim. Feed Sci. Technol.* 198:151–157.
- Ciriaco F. M., D. Henry, V.R.G. Mercadante, T. Schulmeister, M. Ruiz-Moreno, G.C. Lamb and N. DiLorenzo. 2015. Effects of different levels of supplementation of a 50:50 mixture of molasses: crude glycerol on performance, Bermuda grass hay intake, and nutrient digestibility of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 93:2428–2438.
- De, D., and G.P. Singh. 2003. Effect of cold process monensin enriched urea molasses mineral blocks on performance of crossbred calves fed a wheat straw based diet. *Anim. Feed Sci. Technol.* 103: 51–61.
- Dominguez, V.I.A., M.S.S. González, R.J.M. Pinos, G.J.L. Bórquez, G.R. Bárcena, M.G.D. Mendoza, L.E. Zapata, and P.L.L. Landois. 2009. Effects of feeding selenium-yeast

- and chromium-yeast to finishing lambs on growth, carcass characteristics, and blood hormones and metabolites. *Anim. Feed Sci. Technol.* 52: 42–49.
- Erwin E. S., G. J. Marco, and E. M. Emery. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44: 1768–1771.
- Faizi, M.U., M.M. Siddiqui, and G. Habib. 2004. Effect of urea-molasses block supplementation on nutrient digestibility and intake of ammoniated maize stover in cow-calves. *Pak. Vet. J.* 24:13–17.
- Forsberg N.E., R. Al-Maqbaly, A. Al-Halhali, A. Ritchie, and A. Srikandakumar. 2002. Assessment of molasses–urea blocks for goat and sheep production in the Sultanate of Oman: Intake and growth studies. *Trop. Anim. Health Prod.* 34:231–239.
- García C.C.G., G.D.M., Mendoza, S.M. González, M.P. Cobos, M.E.C. Ortega, and L.R. Ramírez. 2000. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and monensin on ruminal fermentation and digestion in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 83:165–170.
- Garg M.R., and B.N. Gupta. 1992. Effect of supplementing urea molasses mineral block lick to straw based diet on DM intake and nutrient utilization. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 5:39–44.
- Goering H.K., and P.J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications), Agric. Handbook No. 379.: Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture (ArsUSDA). Washington, DC. pp:20.
- Haenlein, G.F.W., and R.G. Ramírez. 2007. Potential mineral deficiencies on arid rangelands for small ruminants with special reference to Mexico. *Small Rumin. Res.* 68: 35–41.

- Martínez-Martínez, R., S. López-Ortiz, M.E. Ortega-Cerrilla, R. Soriano-Robles, J.G. Herrera-Haro, J. López-Collado, and E. Ortega-Jiménez. 2012. Preference, consumption and weight gain of sheep supplemented with multinutritional blocks made with fodder tree leaves. *Livest. Sci.* 149: 185–189.
- Mendoza, M.G.D., J.M. Pinos-Rodríguez, H.A. Lee-Rangel, P.A. Hernández-García, R. Rojo-Rubio, and A. Relling. 2016. Effects of dietary calcium propionate on growth performance and carcass characteristics of finishing lambs. *Anim. Prod. Sci.* 56:1194–1198.
- Mendoza, M.G.D., F.X.P. Plata, G. Vazquez, M. Sánchez-Trocino, P.A Hernández, J.A.G. Martínez. 2017. Intake and Digestibility with Nutritional blocks for brocket deer (*Mazama americana* and *Mazama temama*). *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.* 15:26-30.
- Menke K., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28: 7–55.
- Mijares-López, H., O. Hernández-Mendo, G. Mendoza-Martínez, L. Vargas-Villamil, E. Aranda-Ibáñez. 2012. Cambio de peso de toretes en pastoreo en el trópico: respuesta a suplementación con bloque multinutricional. *Universidad y Ciencia* 28:39-49.
- Morales, M.S. and B.A. Dehority. 2014. Magnesium requirement of some of the principal rumen cellulolytic bacteria. *Animal* 8:1427–1432.
- NRC (National Research Council). 2007. Nutrient requirements of small ruminants. Sheep, goats, cervids, and new world camelids. Washintong, DC: National Academy Press. pp: 361.

- Rodríguez-Guerrero, V., A.C. Lizarazo, S. Ferraro, N. Suárez, L.A. Miranda, and G.D. Mendoza. 2018. Effect of herbal choline and rumen-protected methionine on lamb performance and blood metabolites. South African Journal of Animal Science. South African J. Anim. Sci. 48: 427-434.
- Sall, J., A. Lehman, M. Stephens, L. Creighton (Eds). 2012. JMP_ Start Statistics: A Guide to Statistics and data Analysis. 5th ed. SAS Institute, Inc. Cary, NC. USA. pp: 50.
- Sánchez A.E., M.E. Ortega, G. Mendoza, O.D. Montañez, y S.E. Buntinx. 2012. Rastrojo de maíz tratado con urea y metionina protegida en dietas para ovinos en crecimiento. Interciencia 37: 395–399.
- Sansoucy R., G. Aarts, and R.A. Leng. 1988. Molasses-urea blocks as a multinutrient supplement for ruminants. Sugarcane as Feed, FAO Animal Production and Health Paper No. 72, FAO, Rome. pp: 263-279.
- Sudana I.B., and R.A. Leng. 1986. Effects of supplementing a wheat straw diet with urea or a urea-molasses block and/or cottonseed meal on intake and live weight change of lambs. Anim. Feed Sci. Tech. 16: 25–35.
- Van Keulen, J.Y.B.A., and B.A. Young. 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. J. Anim. Sci. 44:282–287.
- Van Soest, P.J., J.B. Robertson, and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal Dairy Sci. 74: 3583-3597.
- Vanzant, E.S., R.C. Cochran, and E.C. Titgemeyer. 1998. Standardization of *in situ* techniques for ruminant feedstuff evaluation. J. Anim. Sci. 76: 2717- 2729.

- Wanapat, M., K. Phesatcha, and S. Kang. 2016. Rumen adaptation of swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*) by high level of urea supplementation when fed on rice straw-based diet. *Trop. Anim. Health Prod.* 48: 1135-1140.
- Yue-ming, W., H. Wei-lia, and L. Jian-xin. 2005. Effects of supplementary urea-minerals lick block on the kinetics of fibre digestion, nutrient digestibility and nitrogen utilization of low quality roughages. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*.6: 793-797.
- Zervas G., M. Rissaki, and S. Deligeorgis. 2001. Free-choice consumption of mineral lick blocks by fattening lambs fed ad libitum alfalfa hay and concentrates with different trace mineral content. *Livest. Prod. Sci.* 68: 251–258.

Research Article

Effect of *Caesalpinia coriaria* Fruits and Soybean Oil on Finishing Lamb Performance and Meat Characteristics

Nallely Sánchez,¹ Germán David Mendoza¹, José Antonio Martínez¹, Pedro Abel Hernández², Luis Miguel Camacho Diaz,³ Hector Aarón Lee-Rangel⁴, Anayeli Vazquez,⁴ and Rogelio Flores Ramirez⁵

¹Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, 04970 Ciudad de México, Mexico

²Centro Universitario UAEM Amecameca, Universidad Autónoma del Estado de México, 56900 Toluca, MEX, Mexico

³Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Guerrero, Chilpancingo, GRO, Mexico

⁴Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, km. 14.5 Carr. San Luis Potosí-Matehuala, 78321 San Luis Potosí, SLP, Mexico

⁵CIACYT, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 78000 San Luis Potosí, SLP, Mexico

Correspondence should be addressed to Hector Aarón Lee-Rangel; leehec@hotmail.com

Received 20 September 2017; Accepted 18 January 2018; Published 21 February 2018

Academic Editor: Adolfo Paz

Copyright © 2018 Nallely Sánchez et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

To evaluate phenolic compounds and whether the combination of a tanniferous fruit and soybean oil could improve the performance, meat characteristics, and fatty acid (FA) profile in lambs, an experiment was conducted over 40 days with twenty creole male lambs (23.71 ± 3.46 kg). The lambs were allotted in a completely randomised design, with factorial arrangement 2×2 , with the following dietary treatments: (1) control diet, (2) 2% *Caesalpinia coriaria* ground fruit dry matter (DM), (3) 2% soybean oil DM, and (4) 2% *Caesalpinia coriaria* fruit plus 2% soybean oil. The concentration of condensed tannins (CT) in *Caesalpinia coriacea* was 21.71 g/kg DM. No interactions were detected ($P > 0.05$) among soybean oil and *Caesalpinia coriaria*, and there were no differences in daily gain, intake, and feed conversion. Soybean oil reduced ($P < 0.05$) DM digestibility (68.05 versus 59.56%). In fat from the *longissimus thoracis et lumborum* (LTL) muscle, only linoleic acid presented differences ($P < 0.05$) between treatments. The combination of *Caesalpinia coriacea* fruit and soybean oil did not improve lamb performance at the included levels.

1. Introduction

There is interest in the study of local plants and to develop extracts that contain secondary compounds (condensed tannins and saponins) that, in addition to their potential to reduce methane emissions, have nutraceutical effects for ruminants [1] and many metabolites with antioxidant properties [2]. Besides it is possible that some phytochemicals promote the synthesis of conjugated linoleic acid, which would have beneficial effects on the consumer due to its nutraceutical effects (cardiovascular, anticancer, neuroprotective, antiosteoporotic, anti-inflammatory, and antioxidant) in humans [3].

The inclusion of plants with condensed tannins (CT) in low or moderate levels in ruminant diets has demonstrated

beneficial effects on lamb performance because the reduction in ruminal protein degradation improves the amino acid supply to the small intestine [4, 5]. Tannins may also reduce losses of methane, and this could increase ME for growth; *in vitro* studies have shown that increasing graded levels of tannin-containing tropical tree leaves result in a linear reduction in methane concentration [6]. Other benefits from tannin supplementation in lamb rations are a higher deposition of Trans C18:1 and C18:2 n-6 in lamb muscle [7].

Vegetable oils are of interest in ruminant feeding since they can reduce methane emissions [8] but there are few evaluations in combination with plants rich in phytochemicals. In an experiment with feedlot lambs with increasing levels of a tanniferous bush and vegetable oils (soybean oil and linseed oil 2 : 1), there were no reports of interactions or

TABLE 1: Experimental diets and chemical composition.

	Control	<i>Caesalpinia coriaria</i>	Soybean oil	<i>C. coriaria</i> + soybean oil
Ingredients (as fed basis, %)				
Sorghum grain	19.608	19.608	19.608	19.231
Corn grain	34.804	34.804	34.804	34.135
Soybean meal 46% CP	3.922	3.922	3.922	3.846
Molasses sugar cane	11.765	9.804	9.804	9.615
Rice polish	8.824	8.824	8.824	8.654
Soybean hulls	5.882	5.882	5.882	5.769
Urea	0.980	0.980	0.980	0.962
Canola meal	3.431	3.431	3.431	3.365
Corn gluten meal	1.961	1.961	1.961	1.923
Wheat bran	3.922	3.922	3.922	3.846
Calcium carbonate	1.471	1.471	1.471	1.442
Mineral premix ¹	0.980	0.980	0.980	0.962
Sodium bicarbonate	0.980	0.980	0.980	0.962
Sodium chloride	0.490	0.490	0.490	0.481
Inert fat	0.980	0.941	0.941	0.808
<i>Caesalpinia coriaria</i>	-	2.000	-	2.000
Soybean oil	-	-	2.000	2.000
Total	100.000	100.000	100.000	100.000
Nutrient content				
DM%	94.910	94.750	94.690	94.530
Ash%	8.990	9.460	8.900	9.370
Ether extract%	3.940	5.675	3.241	5.577
Crude protein%	14.604	13.961	14.327	13.944
NDF%	29.739	30.150	28.953	30.489
ADF%	14.665	15.255	14.319	15.252

¹NaCl 3000 g, Co 75 mg, Cu 5,000 mg, Cr 200 ppb, P 40 g, Fe 30,000 mg, Mn 2,000 mg, Se 100 mg, I 125 mg, Zn 10,500 mg, vitamin A 6,800,000 IU, vitamin D 630,000 IU, and vitamin E 16,500 IU.

effects on growth; even at levels of 80 g/kg of oil, intake was depressed. However, oil supplementation increased total n-3 polyunsaturated fatty acids in meat, improving nutritional value [9]. The inclusion of soybean oil in lamb finishing diets at 60 g/kg did not affect the feedlot performance of lambs [10]. Soybean oil has been reported to have an inhibitory effect on methane production when included at 30 g/kg, affecting methanogenic bacteria and rumen protozoa in lambs [11].

The effects of different tanniferous plants on polyunsaturated fatty acids (FA) in meat indicate that not all condensed tannins have the same effect on ruminal biohydrogenation [12] of dietary fatty acids (FA) as linoleic acid, which improves the rise of trans-11 18:1 (VA, vaccenic acid) in the rumen and thus the content in meat products. Therefore, different plants need to be evaluated to identify those that induce beneficial effects in lamb performance and meat quality. The leaves of *Caesalpinia coriaria* have a very rich tannin content with moderate antibacterial activity against pathogen bacteria [13], and some tropical fruit tree species contain tannins in substantial concentrations [14, 15]; therefore, it was hypothesised that the inclusion of dehydrated fruits with tannins in ruminant diets at lower levels may show the beneficial effects of condensed tannins. An experiment was designed to evaluate whether the inclusion of *Caesalpinia*

coriaria fruit, with or without soybean oil, in feedlot rations could improve lamb performance, meat quality, and long-chain fatty acid deposition in muscle.

2. Materials and Methods

The Animal Care and Use Committee of the Doctorate Program in Animal and Agricultural Sciences from the Universidad Autónoma Metropolitana Campus Xochimilco approved the procedures.

Twenty male hair crossed lambs (23.71 ± 3.46 kg) were randomly assigned to one of four treatments ($n = 5$ lambs/treatment): (1) control diet, (2) 2% *Caesalpinia coriaria* dehydrated ground fruit DM, (3) 2% soybean oil DM, and (4) 2% *Caesalpinia coriaria* fruit and 2% soybean oil. The lambs were housed in individual crates, and feed was provided at 08:00 and 15:00 h. The lambs were adapted to the experimental diets (Table 1) for 10 days, and the experiment lasted 40 days. All lambs had free access to feed, ensuring 100 g orts per kg of the amount fed daily.

The fruits of *Caesalpinia coriaria* were collected in February 2014 in the Pungarabato municipality of Mexico. The fruits were mixed and dried in the shade for 15 days, and, then, the whole fruit (containing the peel and seed) was ground in

a hammermill containing a screen size of 4 mm. Other feeds from the ration were ground with a 2.0 cm screen and mixed in a grinder-mixer (Vigusa, Mexico) to offer experimental rations as total mixed rations.

Daily samples of the feed and orts were collected and combined every 14 days. The dry matter and nitrogen in the diets were analysed according to the AOAC [16]. Neutral detergent fibre (NDF) and acid detergent fibre (ADF) analyses were conducted with a detergent system [17]. Fecal samples were collected every 4 days [18] up to day 30 of the experimental period to estimate apparent dry matter digestion. Feed and orts were collected daily during the same period. Acid-insoluble Ash was used on samples as an internal marker to estimate DM and NDF digestibility [19].

The evaluated variables were daily feed intake, average daily gain (ADG), feed conversion ratio, *longissimus thoracis et lumborum* (LTL) muscle area, and meat characteristics. The muscle area from *longissimus dorsi* was assessed one day before slaughter (day 39) by ultrasonography [20]. After slaughter, muscle samples (5 g) of the left side loin (*longissimus thoracis et lumborum* (LTL)) were collected and stored in a freezer (-20°C) until analyses were performed. To measure Warner-Bratzler shear force, 2.5 cm thick steaks were cooked at 70°C, using a model 1132 Instron Universal Testing Machine (Instron, Canton, MA) with a Warner-Bratzler attachment [21]. Color was measured 24 h after slaughter in fresh cuts of the loin samples using a Minolta CM-2006d spectrophotometer (Konica Minolta Holdings, Inc., Osaka, Japan). The lightness (L^*), redness (a^*), and yellowness (b^*) were recorded [22].

In the dehydrated fruit of *Caesalpinia coriaria*, total condensed tannins (TCTs) were assayed using the butanol-HCl method [23], with *Lysiloma acapulcensis* being used as an internal standard [24]. Analyses of the free (free-CT), protein-bound (PCT) and fibre-bound (FCT) condensed tannins were conducted according to the method of Porter et al. [25]. The purification was performed with Sephadex LH-20 [26, 27].

Lipids for fatty acid analysis were extracted from 500 mg of muscle and analysed in a sample obtained from the area between the 11th and 12th ribs (2.5 cm²) using 2:1(vol/vol) chloroform-methanol [28]. A total of 10–20 mg of extracted lipid was derivatized using 1:4(vol/vol) tetramethylguanidine and methanol [29]. Fatty acid profiles were determined by chromatography on a Supelco-2560, 100 m · 0.25 mm 0.20 mm column (Sigma Aldrich Canada, Oakville, ON, Canada) installed in a gas chromatograph (Agilent 6890, Agilent United States, Santa Clara, CA, USA) by flame ionization detection and splitless injection. Fatty acids from the muscle samples were identified by comparison with retention times of known standards (Sigma Aldrich Canada).

The results were analysed according to a completely randomised design with a 2 × 2 factorial arrangement, and the means were compared with the Tukey test [30].

3. Results and Discussion

The contents of total tannins, tannins bound as fractions, and condensed tannins in the fruit are presented in Table 2,

TABLE 2: Tannin content in *Caesalpinia coriacea* fruit.

Condensed tannins g/kg	21.71
Bounded to protein g/kg	3.17
Bounded to fibre g/kg	7.18
Total tannins g/kg	32.06

showing a high proportion of those bound to fibre and low proportion of those bound to the protein fraction. Most of the studies with tanniferous plants have been focused on the leaves, so there are little data for fruits such as *Crescentia alata* and *Guazuma ulmifolia* [15], perhaps because the intake of fruits by small ruminants in the field is limited due to the large size and hardness of the fruit, which require that mature fruit be collected [16], dehydrated, and ground to be included in the diet.

Even though *Caesalpinia coriaria* leaves have been considered rich in tannin content [13–31], the total CT in the fruit is lower compared to that found in plants consumed by goats in dry tropics where values range from 78 g/kg to 174 g/kg DM [32]. The CT in the fruit (*Caesalpinia coriaria*) is lower than the mean of tropical plants with a high tannin content of 30 g/kg DM [33] but can be considered similar to *Lotus corniculatus*, a legume adapted to acid soils with 23 g/kg condensed tannins [34]. However, the CT (21.71 g/kg) is higher than other tree tropical fruits with concentrations reported of 11.9 and 12.0 g/kg CT [15].

The proportion of tannins bound to fibre or protein in *Caesalpinia coriaria* fruit is relatively low when compared to tropical plants consumed by goats [32]. It has been shown that the condensed tannins have antimethanogenic effects, but the biological importance of different fractions has not been fully elucidated. Plants containing both hydrolysable plus condensed tannins were more effective in reducing the total in vitro gas and methane production than those containing only hydrolysable tannins [35].

No interactions were detected among soybean oil and *Caesalpinia coriaria* fruit; the main effects are presented (Table 3). There were no differences in most of the lamb performance variables; however, soybean oil reduced ($P < 0.05$) NDF digestibility (68.05 versus 59.56% and tended ($P = 0.15$) to reduce DM digestibility 84.08 versus 81.21%). DM and NDF digestibility were highly correlated ($r = 0.96$; $P < 0.0001$). Most of the loin meat characteristics were not affected by treatments.

Several studies agree that lamb performance is not improved with soybean oil or with plants rich in condensed tannins. Abdalla et al. [33] found that the addition of soybean oil at 1.8% and 3% in the diet did not affect lamb performance. Dávila-Ramírez et al. [10] reported similar results in body weight gain, feed intake, and feed efficiency with 6% soybean oil. Others with 2% [36] or 3% [11] soybean did not find a response in lamb performance, even when methane emission was reduced in this last study. In one experiment, when *Crescentia alata* and *Guazuma ulmifolia* fruits were offered ad libitum, the intake of *Crescentia alata* was minimal (48 g/d) compared to the *Guazuma ulmifolia* fruit (686 g/d), which severely affected daily gain in lambs (81 versus 4 g/d) [14]. In

TABLE 3: Main effects of *Caesalpinia coriaria* fruit and soybean oil on lamb performance and digestibility.

	Control	<i>Caesalpinia coriaria</i>	Soybean oil	<i>C. coriaria</i> + soybean oil	SEM
Initial BW kg	23.95	23.48	23.46	23.97	1.777
Final BW kg	35.64	35.53	34.74	36.43	1.490
DM intake kg/d	1.254	1.300	1.249	1.305	0.035
ADG kg	0.292	0.301	0.282	0.311	0.016
Feed conversion	4.44	4.42	4.59	4.26	0.252
DM digestibility%	84.08	81.21	83.36	81.93	2.180
NDF digestibility%	68.05 ^a	59.56 ^b	66.09 ^a	61.52 ^b	0.775
Ruminal pH	5.05	5.64	5.67	5.02	0.407
LTL area cm ²	841.1	980.6	957.0	864.7	75.46
Color characteristics					
<i>L</i>	37.02	36.74	36.07	37.69	0.548
<i>a</i>	20.78	19.63	20.45	19.96	0.616
<i>b</i>	6.96 ^{ab}	6.64 ^{ab}	5.86 ^b	7.73 ^a	0.456
WBSF kg/cm ²	785.58	687.94	783.94	689.58	80.11

^{a,b,ab} Means with different superscript within main effect are different ($P < 0.05$); *L*, lightness; *a*, redness; *b*, yellowness; WBSF: Warner-Bratzler shear force.

other experiments with fixed leaf ratios of *Crescentia alata* and *Guazuma ulmifolia* fruits (15 and 30%), daily gain and feed conversion were not affected, and only intake was higher with 30% of *C. alata* [15].

The dietary concentration of CT in this experiment (0.42 g/kg DM) was lower compared to other studies; the experiment with lamb rations including fruits [15] with concentrations from 1.7 to 3.6 g/kg and daily gain was similar to the control diet, while, in other experiments with higher concentration silages (32 and 62 g/kg DM), the daily gain was reduced at the highest concentrations. The study [5] included *Glycyrrhiza glabra* leaves in lambs with a dietary concentration of 4 g/kg of DM and found a positive response only when PEG associated with the protein.

In another experiment, dietary levels of condensed tannins of 5, 10, and 20 g/kg DM dietary *Cistus ladanifer* combined with a vegetable oil blend (0, 4 and 8%) were evaluated; there were no changes in weight gain by condensed tannins, but oil intake was reduced [9], as observed in our experiment.

Soybean oil may affect protozoa and methanogens; Mao et al. [11] found that the protozoa population was reduced to approximately 52% and methanogens to 41% in lambs fed a diet with soybean oil. This is confirmed in other studies where animals fed a rumen-protected fat diet show larger numbers of protozoa than those supplemented with soybean oil [37].

The effects of substrates containing tannins on ruminal fermentation are desirable if they do not alter VFA concentration and decrease both ammonia N and methane production [6]. The beneficial effects of condensed tannins in moderate dietary concentrations (20–40 g/kg DM) are associated with the improvement of amino acid supply to the small intestine [4] or by the protein sparing effect [5].

In this experiment, only the yellowness was higher with *Caesalpinia coriaria* at 2% ($P < 0.05$) in the diet. This

may be an indicator that tannins could protect against oxidation. However, in other studies, color and shear force values of meat were not affected by the inclusion of plants with condensed tannins [9] or by dietary soybean oil [9–38]. Przywitowski et al. [39] found that diets containing 0.76 and 7.84 g/kg of tannins have positive results on color parameters of turkey meat (*a*, *b* and *L*). Tannin-rich extract could create a darker color and decrease yellowness values in the meat of lambs Luciano et al. [40]. Likewise, Du et al. [41] observed some changes in redness for dietary sorghum with a high tannin content diet; the phenolic compounds such as tannins might improve the color stability of broiler meat during storage [39].

Regarding the changes in long-chain fatty acids, only linoleic acid showed significative differences ($P < 0.05$; Table 4). Several natural phytochemicals and antioxidants, primarily phenolic compounds such as tannins, are also known to exert modulatory effects on lipids in ruminants [42] by decreasing cholesterol levels and altering the FA profile of meat. Vasta et al. [7] reported the concentration of PUFA longissimus muscle from lambs fed the tannin-containing diets (4% condensed tannins). Similar to our results, Min et al. [43] observed changes in C18:2n-6 in growing goats fed with different levels of tannins, but they increased 18:1 n-7c, 18:1 n-7t, 18:2 n-6c, 18:3 n-3, and 20:2 n-6 compared to the control diet.

Possibly, the higher secretion of C18:In9t and 18:In9c with soybean oil could be due to partial biohydrogenation of dietary cis-9 C18:1 to C18:0 followed by its desaturation by stearoyl-CoA desaturase and due to partial protection of soybean oil cis-9 C18:1 from ruminal biohydrogenation [44]. Tannin-containing diets reduce ruminal biohydrogenation. This implies that tannin supplementation could be a useful strategy to increase rumenic acid and polyunsaturated fatty acid concentration and decrease the saturated fatty acids in lamb meat [43].

TABLE 4: Main effects of *Caesalpinia coriaria* fruit and soybean oil on fatty acids composition of muscle lipids.

	Control	<i>Caesalpinia coriaria</i>	Soybean oil	<i>C. coriaria</i> + soybean oil	SEM
C14:0	3.78	4.14	4.14	3.64	0.94
C14:1-9	0.14	0.28	0.75	0.23	0.12
C16:0	29.17	25.08	30.15	28.73	4.21
C16:1	3.69	5.05	4.44	3.26	1.43
C18:0	21.44	22.39	15.88	17.84	5.25
C18:1	0.24	0.33	0.46	0.42	0.11
C18:2n-6	4.12 ^{ab}	0.46 ^b	4.67 ^a	2.35 ^{ab}	0.82
C18:3n	0.15	0.11	0.25	0.15	0.55

^{a,b,ab} Means with different superscript within main effect are different ($P < 0.05$).

4. Conclusion

The inclusion of 2% *Caesalpinia coriaria* fruits, 2% soybean oil dry matter, or their combination does not improve lamb performance in finishing lamb rations, although it could affect long-chain fatty acids in lamb meat.

Conflicts of Interest

The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication of this paper.

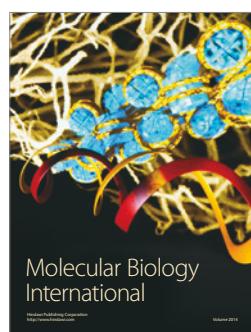
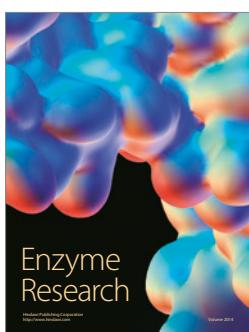
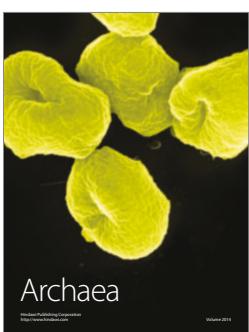
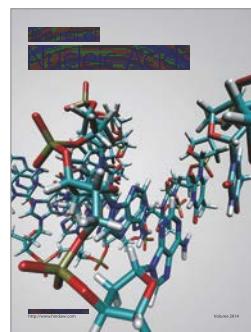
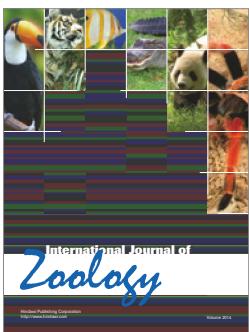
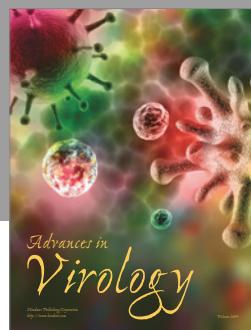
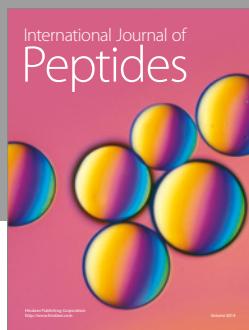
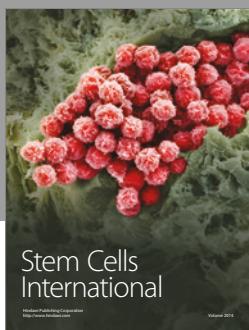
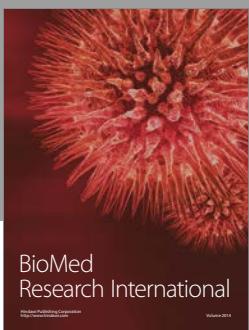
Acknowledgments

The first author acknowledges the National Council for Science and Technology (CONACyT, Mexico) for his doctoral fellowship. The authors acknowledge financial support to Programa para el Desarrollo Profesional Docente, para el Tipo Superior (PRODEP), and PROFIDES SEP.

References

- [1] C. García-Hernández, J. Arece-García, R. Rojo-Rubio et al., "Nutraceutic effect of free condensed tannins of *Lysiloma acapulcensis* (Kunth) benth on parasite infection and performance of Pelibuey sheep," *Tropical Animal Health and Production*, vol. 49, no. 1, pp. 55–61, 2017.
- [2] R. Premanath and N. Lakshmidevi, "Studies on anti-oxidant activity of *Tinospora cordifolia* (Miers.) leaves using in vitro models," *Journal of American Science*, vol. 6, no. 10, pp. 736–743, 2010.
- [3] K.-B. Kim, Y. A. Nam, H. S. Kim, A. W. Hayes, and B.-M. Lee, " α -Linolenic acid: nutraceutical, pharmacological and toxicological evaluation," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 70, pp. 163–178, 2014.
- [4] A. K. Patra and J. Saxena, "Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 91, no. 1, pp. 24–37, 2011.
- [5] M. J. Zamiri, H. Rajaei Sharifabadi, A. S. Bagheri, and A. Solhjoo, "Effects of inclusion of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) leaves, a tannin-containing plant, in a low-protein diet on feedlot performance and carcass characteristics of fat-tailed lambs," *Tropical Animal Health and Production*, vol. 47, no. 3, pp. 597–602, 2015.
- [6] R. Bhatta, Y. Uyeno, K. Tajima et al., "Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations," *Journal of Dairy Science*, vol. 92, no. 11, pp. 5512–5522, 2009.
- [7] V. Vasta, A. Priolo, M. Scerra, K. G. Hallett, J. D. Wood, and O. Doran, " $\Delta 9$ desaturase protein expression and fatty acid composition of longissimus dorsi muscle in lambs fed green herbage or concentrate with or without added tannins," *Meat Science*, vol. 82, no. 3, pp. 357–364, 2009.
- [8] K. A. Beauchemin and S. M. McGinn, "Methane emissions from beef cattle: Effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil," *Journal of Animal Science*, vol. 84, no. 6, pp. 1489–1496, 2006.
- [9] A. Francisco, M. T. Dentinho, S. P. Alves et al., "Growth performance, carcass and meat quality of lambs supplemented with increasing levels of a tanniferous bush (*Cistus ladanifer* L.) and vegetable oils," *Meat Science*, vol. 100, pp. 275–282, 2015.
- [10] J. L. Dávila-Ramírez, U. Macías-Cruz, N. G. Torrentera-Olivera et al., "Effects of zilpaterol hydrochloride and soybean oil supplementation on feedlot performance and carcass characteristics of hair-breed ram lambs under heat stress conditions," *Journal of Animal Science*, vol. 92, no. 3, pp. 1184–1192, 2014.
- [11] H.-L. Mao, J.-K. Wang, Y.-Y. Zhou, and J.-X. Liu, "Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs," *Livestock Science*, vol. 129, no. 1–3, pp. 56–62, 2010.
- [12] V. Vasta, A. Nudda, A. Cannas, M. Lanza, and A. Priolo, "Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants," *Animal Feed Science and Technology*, vol. 147, no. 1–3, pp. 223–246, 2008.
- [13] K. Jeeva, M. Thiagarajan, V. Elangovan, N. Geetha, and P. Venkatachalam, "*Caesalpinia coriaria* leaf extracts mediated biosynthesis of metallic silver nanoparticles and their antibacterial activity against clinically isolated pathogens," *Industrial Crops and Products*, vol. 52, pp. 714–720, 2014.
- [14] S. Rojas, J. Olivares, I. Gutiérrez, R. Jiménez, F. León, and A. Córdova, "Use of *Crescentia alata* and *Guazuma ulmifolia* fruits in lamb feeding in subtropical region of Guerrero, Mexico," *Revista Científica FCV-LUZ*, vol. 23, pp. 157–162, 2013.
- [15] S. Rojas-Hernandez, J. Olivares-Perez, F. Aviles-Nova, A. Villa-Mancera, A. Reynoso-Palomar, and L. M. Camacho-Díaz, "Productive response of lambs fed *Crescentia alata* and *Guazuma ulmifolia* fruits in a tropical region of Mexico," *Tropical Animal Health and Production*, vol. 47, no. 7, pp. 1431–1436, 2015.
- [16] AOAC, *Official Methods of Analysis*, Association of Official Analytical Chemists, Washington, Wash, USA, 16th edition, 1990.

- [17] P. J. van Soest, J. B. Robertson, and B. A. Lewis, "Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition," *Journal of Dairy Science*, vol. 74, no. 10, pp. 3583–3597, 1991.
- [18] R. A. Stock, D. R. Brink, R. A. Britton et al., "Feeding combinations of high moisture corn and dry-rolled grain sorghum to finishing steers," *Journal of Animal Science*, vol. 65, no. 1, pp. 290–302, 1987.
- [19] J. Van Keulen and B. A. Young, "Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies," *Journal of Animal Science*, vol. 44, no. 2, pp. 282–287, 1977.
- [20] S. R. Silva, M. J. Gomes, A. Dias-Da-Silva, L. F. Gil, and J. M. T. Azevedo, "Estimation in vivo of the body and carcass chemical composition of growing lambs by real-time ultrasonography," *Journal of Animal Science*, vol. 83, no. 2, pp. 350–357, 2005.
- [21] T. L. Wheeler, S. D. Shackelford, L. P. Johnson, M. F. Miller, R. K. Miller, and M. Koohmaraie, "A comparison of Warner-Bratzler shear force assessment within and among institutions," *Journal of Animal Science*, vol. 75, no. 9, pp. 2423–2432, 1997.
- [22] G. Ripoll, P. Albertí, and M. Joy, "Influence of alfalfa grazing-based feeding systems on carcass fat colour and meat quality of light lambs," *Meat Science*, vol. 90, no. 2, pp. 457–464, 2012.
- [23] T. H. Terrill, A. M. Rowan, G. B. Douglas, and T. N. Barry, "Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 58, no. 3, pp. 321–329, 1992.
- [24] J. López, I. Tejada, C. Vásquez, J. De Dios Garza, and A. Shimada, "Condensed tannins in tropical fodder crops and their in vitro biological activity: Part 2," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 84, no. 4, pp. 295–299, 2004.
- [25] L. J. Porter, L. N. Hrstich, and B. G. Chan, "The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin," *Phytochemistry*, vol. 25, no. 1, pp. 223–230, 1985.
- [26] T. N. Asquith and L. G. Butler, "Use of dye-labeled protein as spectrophotometric assay for protein precipitants such as tannin," *Journal of Chemical Ecology*, vol. 11, no. 11, pp. 1535–1544, 1985.
- [27] H. Hedqvist, I. Mueller-Harvey, J. D. Reed, C. G. Krueger, and M. Murphy, "Characterisation of tannins and in vitro protein digestibility of several *Lotus corniculatus* varieties," *Animal Feed Science and Technology*, vol. 87, no. 1-2, pp. 41–56, 2000.
- [28] J. Folch, M. Lees, and G. H. Sloane Stanley, "A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 226, no. 1, pp. 497–509, 1957.
- [29] N. C. Shantha, E. A. Decker, and B. Hennig, "Comparison of methylation methods for the quantitation of conjugated linoleic acid isomers," *Journal of AOAC International*, vol. 76, pp. 644–649, 1993.
- [30] G. D. R. Steel, J. H. Torrie, and D. A. Dickey, *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*, McGraw-Hill, New York, NY, USA, 1997.
- [31] D. Anandhi, P. T. Srinivasan, K. Revathi, and E. K. Revathy, "Antibacterial activity of *Caesalpinia coriaria*," *Biosciences, Biotechnology Research Asia*, vol. 8, no. 2, pp. 759–764, 2011.
- [32] L. M. Camacho, R. Rojo, A. Z. M. Salem et al., "In vitro ruminal fermentation kinetics and energy utilization of three Mexican tree fodder species during the rainy and dry period," *Animal Feed Science and Technology*, vol. 160, no. 3-4, pp. 110–120, 2010.
- [33] A. L. Abdalla, H. Louvandini, S. M. A. H. Sallam, I. C. S. da Bueno, S. M. Tsai, and A. V. O. de Figueira, "In vitro evaluation, in vivo quantification, and microbial diversity studies of nutritional strategies for reducing enteric methane production," *Tropical Animal Health and Production*, vol. 44, no. 5, pp. 953–964, 2012.
- [34] B. R. Min, W. C. McNabb, T. N. Barry, P. D. Kemp, G. C. Waghorn, and M. F. McDonald, "The effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon reproductive efficiency and wool production in sheep during late summer and autumn," *Journal of Agricultural Science*, vol. 132, no. 3, pp. 323–334, 1999.
- [35] R. Bhatta, M. Saravanan, L. Baruah, and C. S. Prasad, "Effects of graded levels of tannin-containing tropical tree leaves on in vitro rumen fermentation, total protozoa and methane production," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 118, no. 3, pp. 557–564, 2015.
- [36] S. B. Soares, I. F. Furusho-Garcia, I. G. Pereira et al., "Performance, carcass characteristics and non-carcass components of Texel × Santa Inês lambs fed fat sources and monensin," *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 41, no. 2, pp. 421–431, 2012.
- [37] G. Fiorentini, J. D. Messana, P. H. M. Dian et al., "Digestibility, fermentation and rumen microbiota of crossbred heifers fed diets with different soybean oil availabilities in the rumen," *Animal Feed Science and Technology*, vol. 181, no. 1-4, pp. 26–34, 2013.
- [38] J. Santos-Silva, I. A. Mendes, P. V. Portugal, and R. J. B. Bessa, "Effect of particle size and soybean oil supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs," *Livestock Production Science*, vol. 90, no. 2-3, pp. 79–88, 2004.
- [39] M. Przywitowski, D. Mikulski, Z. Zdunczyk, A. Rogiewicz, and J. Jankowski, "The effect of dietary high-tannin and low-tannin faba bean (*Vicia faba* L.) on the growth performance, carcass traits and breast meat characteristics of finisher turkeys," *Animal Feed Science and Technology*, vol. 221, pp. 124–136, 2016.
- [40] G. Luciano, F. J. Monahan, V. Vasta, L. Biondi, M. Lanza, and A. Priolo, "Dietary tannins improve lamb meat colour stability," *Meat Science*, vol. 81, no. 1, pp. 120–125, 2009.
- [41] M. Du, G. Cherian, P. A. Stitt, and D. U. Ahn, "Effect of dietary sorghum cultivars on the storage stability of broiler breast and thigh meat," *Poultry Science*, vol. 81, no. 9, pp. 1385–1391, 2002.
- [42] S. Calabró, M. I. Cutrignelli, O. J. Gonzalez et al., "Meat quality of buffalo young bulls fed faba bean as protein source," *Meat Science*, vol. 96, no. 1, pp. 591–596, 2014.
- [43] B. R. Min, S. Solaiman, E. Taha, and J. Lee, "Effect of plant tannin-containing diet on fatty acid profile in meat goats," *Journal of Animal Research and Nutrition*, vol. 1, article 5, 2015.
- [44] I. Lerma-Reyes, G. D. Mendoza-Martínez, R. Rojo-Rubio, M. Mejía, J. C. García-López, and H. A. Lee-Rangel, "Influence of supplemental canola or soybean oil on milk yield, fatty acid profile and postpartum weight changes in grazing dairy goats," *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, vol. 31, no. 2, pp. 225–229, 2018.



Efecto del propionato de calcio en bloques sobre respuesta productiva, CH₄ y CO₂ en corderos

Effect of calcium propionate in blocks on productive response, CH₄ and CO₂ in lambs

Calcium propionate in multinutritional blocks in lambs

Nallely Sánchez L,¹ M.Sc., Germán Mendoza M,¹ Ph.D., José Martínez G,² Dr., Pedro Hernández G,³ Dr., Luis Miranda R,⁴ Dr., Oscar Villarreal EB,^{5*} Dr.

¹Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, CDMX., 04960, México. ²Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, CDMX, México, 04960.

³Universidad del Estado de México, Centro Universitario Amecameca, 56900, México. ⁴Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo, México, Edo. Mex., 56230, México. ⁵Benemérita Universidad Autónoma de Puebla Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Km.

7.5 Carretera Tecamachalco, Cañada Morelos, El Salado Tecamachalco, Puebla, México 75480. *Correspondencia: dr.oscarvillarreal@gmail.com

RESUMEN

Objetivo. Evaluar dos bloques multinutricionales formulados para mejorar el crecimiento de los corderos alimentados con una dieta basal de bajo valor nutritivo, con y sin propionato de calcio (Pr-Ca), evaluando el crecimiento de los corderos, digestibilidad y las emisiones de gases efecto invernadero *in vivo* e *in vitro*. **Materiales y métodos.** Se utilizaron doce borregos (20.17 ± 2.35 Katahdin x criollo) en tres tratamientos: Dieta basal (DB 70% paja de avena; 30% concentrado), DB+ Bloque sin Pr-Ca y DB + Bloque con 1.5% de Pr-Ca, por 50 días. Se midió producción de gas (PG) *in vitro* y se estimaron los parámetros de cinética (Vmax, S, Lag). Se estimaron la digestibilidad, CH₄ y CO₂ *in vitro* e *in vivo*. **Resultados.** El consumo fue menor ($P<0.0001$) en borregos sin bloque (753 g/d) en comparación con bloque sin (839 g) o con Pr-Ca (828 g) emisiones de metano mayor con bloques (16.16 y 16.18 g/d; 0 y 1.5% Pr-Ca respectivamente) que con DB (13.93 g/d). La PG *in vitro* fue mayor ($P=0.0001$) con la DB (380.76 ml) sin

diferencias entre bloques (335.76 y 341.13 ml, 0 y 1.5% Pr-Ca respectivamente), y la DB tuvo mayor ($P=0.0001$) producción de CH₄ (47.16 mol) y CO₂ (200.04 mol) que con bloques (42.25 y 41.58 mol CH₄; 179.21 y 176.39 moles CO₂; 0 y 1.5% Ca-Pr respectivamente). **Conclusiones.** La suplementación con bloques mejora el consumo. *In vitro* los bloques redujeron la producción de gas e incrementaron la digestibilidad reduciendo CH₄ y CO₂.

Palabras clave: aditivo, bloque multinutricional, gases efecto invernadero, pequeño rumiante, suplementación.

ABSTRACT

Objective. Evaluate two multinutritional blocks formulated to improve the growth of lambs fed a basal diet of low nutritional value, with and without calcium propionate (Ca-Pr) evaluating the growth of lambs, digestibility and greenhouse gas emissions *in vivo* and *in vitro*.

Materials and methods. Twelve sheep were used (20.17 ± 2.35 Katahdin x criollo) in three treatments: Basal diet (BD 70% oat straw, 30% concentrate), BD+ Block without Ca-Pr and BD+ Block with 1.5% Ca-Pr, it was evaluated for 50 days. *In vitro* gas production (GP) and kinetic parameters were estimated (Vmax, S, Lag). Digestibility, CH₄ and CO₂ *in vitro* and *in vivo* were estimated. **Results.** The intake was the lowest ($P<0.0001$) in lambs without block (753 g/d) compared lambs supplemented with block without (839 g) or with Ca-Pr (828 g) and the methane emission was greater with both blocks (16.16 and 16.18 g/d; 0 and 1.5% Ca-Pr respectively) than with BD (13.93 g/d). The GP *in vitro* was higher ($P=0.0001$) with the BD (380.76, ml) than with blocks without differences among blocks (335.76 and 341.13 ml, 0 and 1.5% Ca-Pr respectively), and the BD had higher ($P=0.0001$) production of CH₄ (47.16 mol) and CO₂ (200.04 mol) than with blocks (42.25 and 41.58 mol CH₄; 179.21 and 176.39 mol CO₂; 0 and 1.5% Ca-Pr respectively). **Conclusions.** Block supplementation improves consumption. *In vitro* the blocks reduced gas production and increased digestibility by reducing CH₄ and CO₂.

Key words: additive, multinutritional block, greenhouse gases, small ruminant, supplementation.

INTRODUCCIÓN

Se han realizado varios estudios sobre las emisiones de gases efecto invernadero (GEI) para evaluar la contribución de los rumiantes y las alternativas para mitigar el problema (1), el cual representa arriba del 12% de la energía consumida (2). Para reducir estas pérdidas y hacer que la producción sea más eficiente utilizando aditivos (3,4) que en ocasiones no mejoran el rendimiento (5) o no impactan la fermentación (6) y los más eficientes como los ionóforos han sido prohibidos porque son antibióticos.

El uso de propionato de calcio (Pr-Ca) como una fuente de alimentación no convencional ha sido utilizada en corderos para reducir el consumo de granos, incrementando el propionato ruminal (7). Su potencial para reducir el metano se explica porque durante su disociación captura el ion de hidrógeno reduciendo su disponibilidad para formar metano (8). Se sabe que las emisiones de GEI pueden reducirse si se mejora la digestibilidad, lo cual se puede lograr con una nutrición adecuada, particularmente en rumiantes alimentados con dietas con forrajes de baja calidad (9). Esto puede realizarse por la suplementación de bloques multinutricionales (BM) que han sido evaluados en todo el mundo (10), sin embargo, la respuesta no ha sido constante porque durante muchos años la FAO promovió una fórmula de bloque para todas las condiciones (11) cuando los requerimientos de nutrientes son diferentes por etapas fisiológicas y con una diversidad de dietas basales. Por lo tanto, el objetivo de este experimento fue evaluar dos bloques multinutricionales formulados con el fin de mejorar el crecimiento de los corderos alimentados con una dieta basal de bajo valor nutritivo, con o sin Pr-Ca, evaluando el impacto en el crecimiento del cordero, digestibilidad y en las emisiones de GEI *in vivo* e *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Doce Katahdin x cordero criollo (20.17 ± 2.35 peso inicial (PI)) alojados en jaulas individuales con acceso al alimento y agua limpia *ad libitum*. Al comienzo del experimento, los corderos fueron

desparasitados (Closantel 5 mg/kg PV) y vitaminados (A, D y E, Vigantol ® de Bayer 2 ml/cordero).

Los corderos fueron distribuidos en un Diseño Completamente al Azar ($n=4$ corderos) en tres tratamientos: dieta basal sin suplementar (DB: 70% rastrojo de maíz, 30% concentrado, Tabla 1), DB con acceso a bloque multinutricional con o sin 1.5% de Pr-Ca (Alimentaria Mexicana Bekarem, Ciudad de México) (Tabla 2). El alimento y los bloques fueron ofrecidos *ad libitum*. La dieta basal fue diseñada con bajo valor nutricional para evaluar el impacto de la suplementación siendo representativa de los productores de la región. Los bloques multinutricionales (BM) fueron formulados considerando las recomendaciones del NRC (12) estimando un consumo de 100 g/d bloque. La dieta basal y bloques fueron analizados para determinar: materia seca, materia orgánica, proteína cruda (13), fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA) (14) (Tabla 3).

El experimento duró 50 días. Los corderos fueron pesados con 12 horas de ayuno. En el día 24 las muestras fecales fueron recolectadas por cuatro días consecutivos para determinar la digestibilidad del tracto total de la MS usando ceniza de ácido insoluble como marcador interno (15). Las ecuaciones de IPCC fueron usadas (16) para estimar el metano ruminal utilizando el factor de emisión anual (FE) por cordero, donde el Y_m o fracción de la energía bruta del alimento transformado a CH_4 fue calculado utilizando la digestibilidad de cada tratamiento con ecuaciones para cordero (17). Las emisiones de dióxido de carbono fueron estimadas del consumo de carbohidratos digestibles (18), que se usaron para estimar los moles de hexosa fermentados en el rumen usando el peso molecular de glucosa anhidra (19). El patrón de fermentación fue de la relación forraje:concentrado y por las ecuaciones estequiométricas de Wolin (20) fueron calculados los moles de CO_2 producidos.

La producción de gas derivada de la fermentación ruminal fue determinada por la técnica de gas *in vitro* (21). La DB se utilizó como sustrato incubado con cada BM en una proporción del 5% de la dieta basal. Antes de la incubación, los sustratos se secaron a 55 °C por 48 h en un horno y molido (<2 mm). Quinientos miligramos de cada tratamiento se colocaron en botellas ámbar de 125 ml de capacidad.

Después se incubaron en condiciones anaeróbicas con 90 ml de un inóculo diluido (1:10) de bacterias del rumen obtenidas de dos corderos en ayuno. Los frascos fueron herméticamente sellados e incubados a 39°C por 72 h en baño maría. El volumen de gas producido se registró a las 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 42, 48, 60 y 72 h y los valores de presión transformados a volumen de gas con la ecuación de regresión lineal, usada para estimar los parámetros de la cinética de producción de gas: volumen máximo de gas (V_m ; mL g⁻¹ MS del sustrato), tasa de producción de gas (S ; h⁻¹) y el tiempo lag de la fermentación (L ; h), con el modelo: $V_o = V_m / (1 + e^{(2-4 \cdot s \cdot (t-L))})$ (21). Al final de la fermentación se obtuvo la materia seca residual (MS) para calcular la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) a las 72 h de incubación, cada tratamiento incubado por triplicado. El CH₄ y CO₂ *in vitro* fueron estimados del volumen máximo de gas. Las cadenas cortas de aminoácidos fueron calculadas con la ecuación de Getachew (22) y la proporción de metano y dióxido de carbono los factores estequiométricos utilizados fueron 0.538 mmol para CO₂ y 0.348 mmol CH₄ que se han descrito en otros estudios *in vitro* (23).

Los resultados de los corderos *in vivo* se analizaron con un Diseño Completamente al Azar, considerando cada borrego como unidad experimental y tratamientos con efectos fijos. El peso inicial fue analizado como covariable utilizando el software JMP (24). Los parámetros de cinética de gas *in vitro* fueron estimados usando modelos no lineales JMP. Se estimó la correlación simple entre los resultados de GEI *in vivo* e *in vitro* (24).

RESULTADOS

La suplementación con BM incrementó el consumo ($P<0.01$) por 10%, sin embargo, no se encontraron diferencias en otras variables (Tabla 4). La suplementación con bloques no redujo las emisiones diarias de metano y CO₂ debido al mayor consumo de alimento. El propionate de calcio en el bloque no redujo el consumo ni emisiones de GEI. En la Tabla 5 se muestran los parámetros de gas *in vitro*. La dieta basal resultó con un alto volumen de gas ($P<0.001$) y como consecuencia, se produjeron más moles de CH₄ y CO₂ ($P<0.0001$). No hubo diferencias entre los bloques por la inclusión de Pr-Ca. La digestibilidad *in vitro* no se vió afectada por la suplementación con

bloque. Los valores de digestibilidad *in vitro* fueron correlacionados con los observados *in vivo* ($r= 0.9964$, $P=0.054$), y la digestibilidad *in vivo* está asociada con la ganancia diaria de peso ($r=0.99768$, $P=0.0434$). Las emisiones de metano y dióxido de carbono fueron positivamente correlacionadas con el consumo de materia seca ($r= 0.9921$, $P=0.07$; $r=0.9920$, $P=0.08$). El metano y dióxido de carbono *in vivo* e *in vitro* mostraron una alta correlación negativa ($r= -0.99$, $P=0.07$; $r=-0.99$, $P=0.07$).

DISCUSIÓN

Como se observó en este experimento, se ha reportado que los BM estimulan el consumo (25) pero hay estudios donde no tuvieron efecto (26). La composición de los bloques puede modificar el consumo (10), existiendo interacciones entre contenido de nutrientes en el bloque y en la dieta basal. En esos estudios, cuando mejora el consumo, generalmente se han observado mayores ganancias diarias o peso final y en algunos casos, esto se asocia con una mayor digestibilidad (9) y consumo de nutrientes. En este estudio la ganancia fue mejorada en un 35% pero el bajo número de repeticiones y la variación no permitió detectar diferencias. El tipo de bloque puede tener diferentes efectos en el consumo y la digestibilidad. Al modificar la fuente de energía afectó el consumo de bloque sin afectar la digestibilidad (25).

La incorporación de Pr-Ca en el BM no mejoró el rendimiento del cordero ni las emisiones de dióxido de carbono. Si los valores de metano y dióxido de carbono *in vivo* fueran expresados por kg de materia seca consumida resultarían valores similares (DB 1.84, 1.95 y 1.92 por BM con 0 ó 1.5% Pr-Ca) lo que indica que el consumo de bloques y sus aditivos fueron insuficientes para modificar la fermentación ruminal. En otras evaluaciones, el Pr-Ca no afectó el consumo ni el rendimiento del cordero, 1% MS (7) y arriba de 5.5% MS (27) la cantidad consumida en el bloque estuvo por debajo de esos estudios. Los resultados de gas *in vitro* indican que los bloques reducirían el metano, pero los valores *in vivo* contradicen esto ya que aumentan el consumo. Se debe tener precaución al extrapolalar los resultados de los estudios de gas *in vitro* donde no se presentan datos *in vivo* (28). Con respecto a otros parámetros de gas *in vitro*, se ha reportado que el 1% Pr-Ca aumenta la

fase Lag pero no afecta el patrón de fermentación ó pérdidas de metano (29). En otro estudio *in vitro* con 10% de Pr-Ca, el volumen de gas aumentó el cual fue atribuido a los efectos sobre pH y a la presión osmótica (8). En una evaluación *in vivo* con toros recibieron 20 g/d de Pr-Ca, no afectaron la fermentación ni la población microbiana (30), pero la dosis fue muy baja.

El uso de BM podría reducir el tiempo de los corderos para alcanzar el peso final de 44 a 60 días suplementando sin ó con propionate de calcio respectivamente, reduciendo emisiones diarias, y podría ser una alternativa para reducir las emisiones globales de GEI. La mayoría de los estudios se centran en datos diarios, pero es importante considerar los efectos y su impacto sobre el calentamiento global en términos de tiempo (21).

CONCLUSIÓN

La suplementación con bloques multinutricionales en dietas de baja calidad mejoró el consumo. *In vitro* los bloques redujeron la producción de gas y aumentaron la digestibilidad, por lo que potencialmente podrían reducir las emisiones de metano y dióxido de carbono.

AGRADECIMIENTOS

El primer autor agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT México). Ésta investigación fue parcialmente respaldada por PROFIDES SEP México y el Programa para el Desarrollo Profesional Docente, para el Tipo Superior (PRODEP). Los autores agradecen a Grupo Biotecap S.A. de C.V. por la donación de minerales orgánicos.

DIVULGACIÓN DE DECLARACIÓN

Los autores no tienen ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. Patra A, Park T, Kim M, Yu Z. Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. Journal Animal Science Biotechnology 2017; 8(1): 13.

2. Mendoza-Martínez GD, Plata-Pérez FX, Espinosa-Cervantes R, Lara-Bueno A. Manejo nutricional para mejorar la eficiencia de utilización de la energía en bovinos. Universidad y Ciencia 2008; 24(1): 75-87.
3. Crossland WL, Tedeschi LO, Callaway TR, Miller MD, Smith W. Effects of rotating antibiotic and ionophore feed additives on enteric methane and rumen microbial populations of steers consuming a high forage diet. Journal Animal Science 2016; 94(5): 666-667.
4. Ferraro SM, Mendoza GD, Miranda LA, Gutiérrez CG. *In vitro* gas production and ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses. Animal Feed Science Technology 2009; 154 (1-2): 112-118.
5. Liu Q, Wang C, Yang WZ, Guo G, Yang XM, He DC, et al. Effects of calcium propionate supplementation on lactation performance, energy balance and blood metabolites in early lactation dairy cows. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 2010; 94(5): 605-614.
6. Avila JS, Chaves AV, Hernandez-Calva M, Beauchemin KA, McGinn SM, Wang Y, et al. Effects of replacing barley grain in feedlot diets with increasing levels of glycerol on *in vitro* fermentation and methane production. Animal Feed Science and Technology 2011; 166: 265-268.
7. Lee-Rangel HA, Mendoza GD, González SS. Effect of calcium propionate and sorghum level on lamb performance. Animal Feed Science and Technology 2012; 177(3-4): 237-241.
8. Osorio-Teran AI, Mendoza-Martínez GD, Miranda-Romero LA, Martínez-Gomez D, Hernández-García PA, Martínez-García JA. Effect of calcium propionate and monensin on *in vitro* digestibility and gas production. Revista Brasileira de Zootecnia 2017; 46(4): 348-353.
9. Yue-ming WU, Wei-lian HU, Jian-xin LIU. Effects of supplementary urea-minerals lick block on the kinetics of fibre digestion, nutrient

- digestibility and nitrogen utilization of low quality roughages. Journal of Zhejiang University Science B 2005; 6(8): 793-797.
10. Mendoza GD, Plata FX, Vázquez G, Sánchez-Trocino M, Hernández PA, Martínez JA. Intake and digestibility with nutritional blocks for brocked deers (*Mazama americana* and *Mazama temama*). International Journal Applied Research in Veterinary Medicine 2017; 15: 26-30.
 11. Makkar HP, Sánchez M, Speedy AW. Feed supplementation blocks: urea-molasses multinutrient blocks: simple and effective feed supplement technology for ruminant agricultura. Food & Agriculture Org 2007; 164.
 12. NRC. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Firts ed. National Research Council, National Academic Science, Washington, DC, USA 2007; 292.
 13. AOAC, Association of Official Analytical Chemists. Methods of Analysis. Washington D.C., USA 1995.
 14. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal Dairy Science 1991; 74: 3583-3597.
 15. Keulen V, Young BA. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. Journal of Animal Science 1977; 44: 282-287.
 16. IPCC, Fourth Assessment Report: Climate Change. Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge 2007.
 17. Cambra-López M, García-Rebollar P, Estellés F, Torres A. Estimación de las emisiones de los rumiantes en España: El Factor de Conversión de Metano. Archivos de Zootecnia 2008; 57: 89-101.

18. ARC. The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock. Commonwealth Agricultural Bureau, Surrey, UK. 1980.
19. Briceño PEG, Ruiz GA, Chay CAJ, Ayala BAJ, Aguilar PCF, Solorio SFJ, et al. Voluntary intake, apparent digestibility and prediction of methane production by rumen stoichiometry in sheep fed pods of tropical legumes. Animal Feed Science and Technology 2012; 176: 17-122.
20. Wolin JM. A theoretical rumen fermentation balance. Journal of Dairy Science 1960; 40: 1452-1459.
21. Menke KH, Steingass H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Research Development Journal 1988; 28:7-55.
22. Getachew G, Makkar HPS, Becker K. Tropical browse: contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. The Journal of Agricultural Science 2002; 139:(3) 341-352.
23. Blümmel M.; Steingaß, H.; Becker, K. The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and ¹⁵N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. British Journal of Nutrition 1997; 77: 911-921.
24. Sall J, Lehman A, Stephens M, Creighton L. 'JMP® start statistics: a guide to statistics and data analysis.' 5th ed. SAS Institute Inc.: Cary, NC 2012.
25. Faftine OLJ, Zanetti AM. Effect of multinutrient block on feed digestibility and performance of goats fed maize stover during the dry season in south of Mozambique. Livestock Research for Rural Development 2010; 22: 162.
26. Wadhwa M, Bakshi MPS. Nutritional evaluation of urea molasses multi-nutrient blocks containing agro-industrial wastes in buffaloes. Indian Journal Animal Science 2014; 84: 544-548.

27. Berthelot V, Bas P, Schmidely P, Duvaux-Ponter C. Effect of dietary propionate on intake patterns and fatty acid composition of adipose tissues in lambs. *Small Ruminant Research* 2001; 40: 29–39.
28. Elghandour MM, Salem AZ, Khusro A, Cipriano-Salazar M, Olivares-Pérez J, Barros-Rodriguez MA, et al. Assessment of some browse tree leaves on gas production and sustainable mitigation of CH₄ and CO₂ emissions in dairy calves at different age. *Journal of Cleaner Production* 2017; 162: 1192-1199.
29. Miranda LA, Lee-Rangel HA, Mendoza-Martínez GD, Crosby-Galván MM, Relling AE, Pinos-Rodríguez JM, et al. Influence of calcium propionate on in vitro fermentation of sorghum-based diets. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. 2017; 49(1) 185-192.
30. Yao Q, Li Y, Meng Q, Zhou Z. The effect of calcium propionate on the ruminal bacterial community composition in finishing bulls. *Asian Australas Journal Animal Science* 2017; 30: 495-504.

Tabla 1. Composición de la dieta experimental basal (materia seca) concentrado de forraje 70:30

Ingredientes	Inclusión, %
Rastrojo de maíz	70.00
Grano de maíz	9.22
Pasta de soya	11.00
Sorgo	8.80
Sal	1.00
Total	100.00

Tabla 2. Formulación de bloques experimentales

	Propionato de calcio 0%	Propionato de calcio 1.5%
Melaza	31.81	31.91
Urea	9.09	9.11
Propionato de calcio	0	1.50
Pasta de soya	4.54	4.55
Harina de canola	2.27	2.27
Harina de pescado	2.27	2.27
Sal	4.54	4.55
Premezcla mineral ^a	4.54	4.55
Cal	4.54	4.55
Cemento	4.54	4.55
Premezcla mineral orgánica ^b	0.90	0.91
Salvado de trigo	9.09	9.11
Cascarilla de soya	4.54	4.55
Grano de maíz	8.18	6.38
Grano de trigo	9.09	9.11

^a Vitasal Engorda Ovinos Plus contenía: Ca 270 g, P 30 g, Mg 7.5 g, Na 65.6 g, Cl 100 g, K 0.5 g, S 42 mg, Fe 978 mg, Zn 3000 mg, Se 20 mg, Co 15 mg, vitamina A 35000 UI, vitamina D 1500000 IU y vitamina E 150 UI.

^b Ovy ways 3 contenía: Selenio 590 mg, Cromo 990 mg, Cobre 1500 mg, Hierro 3000 mg, Zinc 3000 mg, Manganeso 3000 mg, Células de levadura vivas.

Tabla 3. Composición química de la dieta basal y bloques experimentales multinutricionales

	Ración basal	Blocks	
		Pr-Ca 0%	Pr-Ca 1.5%
MS, %	89.28	89.32	89.26
Cenizas, %	4.47	7.63	7.73
MO, %	95.53	92.36	92.25
PC, %	11.05	11.53	11.76
FDN, %	40.28	36.71	36.50
FDA, %	14.85	13.77	13.57
EE, %	3.13	2.72	2.72

Pr-Ca: Propionato de calcio en bloque; MS: materia seca; MO: materia orgánica; PC: proteína cruda; FDN: fibra detergente neutra; FDA: fibra detergente ácida; EE: extracto etéreo

Tabla 4. Rendimiento productivo emisión de metano y dióxido de carbono de corderos suplementados con bloques con o sin propionato de calcio

	Control	Bloques			EEM	<i>P-value</i>
		Pr-Ca 0%	Pr-Ca 1.5%			
Peso inicial, kg	21.23	19.70	19.60	0.40	0.59	
Peso final, kg	23.98	23.25	23.52	0.74	0.94	
CMS, g	753 ^c	839 ^b	828 ^a	0.01	0.0001	
Consumo bloque, g	0.0 ^b	82 ^a	86 ^a	6.48	0.0001	
GDP, g	0.098	0.126	0.140	0.34	0.36	
CA	9.94	6.98	6.39	0.37	0.51	
Digestibilidad MS, %	76.87	80.04	81.22	0.28	0.32	
CH ₄ , g/d	13.93 ^b	16.16 ^a	16.18 ^a	0.003	0.004	
CO ₂ , g/d	55.29 ^b	64.15 ^a	64.24 ^a	0.003	0.004	

Pr-Ca: Propionato de calcio en bloque; EEM: error estándar de la media; CMS: consumo de materia seca; GDP: ganancia diaria de peso; CA: conversión alimenticia, MS: materia seca; CH₄: metano; CO₂: dióxido de carbono.

^{ab} Medias con diferentes superíndices son diferentes (*P*<0.05)

Tabla 5. Parámetro de producción de gas *in vitro* y dieta basal de incubación de metano y dióxido de carbono más bloques con o sin propionato de calcio

	Control	Bloques		EEM	P-value
		Pr-Ca 0%	Pr-Ca 1.5%		
Vmax, ml	380.76 ^a	335.76 ^b	341.13 ^b	0.567	0.0044
S, h ⁻¹	0.030 ^b	0.033 ^a	0.032 ^a	0.108	0.0005
Lag, h	2.87	3.10	2.79	0.059	0.1283
DIVMS, %	60.96	63.89	64.58	0.622	0.0734
CH ₄ , mol	47.16 ^a	41.58 ^b	42.25 ^b	0.568	0.0044
CO ₂ , mol	200.04 ^a	176.39 ^b	179.21 ^b	0.567	0.0044

Ca-Pr: Propionato de calcio en bloque; EEM, error estándar de la media; Vmax: volumen máximo, S: tasa de producción de gas, Lag: tiempo de retraso, DIVMS: digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

^{ab} Medias con diferentes superíndices difieren (P <0.05).

Nivel nutricional y uso de fuentes herbales en bloques sobre CH₄ y CO₂ en corderos

Nallely Sánchez, Germán David Mendoza, José Antonio Martínez García, Pedro Abel

Hernández García, Oscar A. Villareal-Espino Barros*

Nallely Sánchez. Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México, D.F., México 04960.

Germán David Mendoza Martínez. Coordinador de Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México, D.F., México 04960.

José Antonio Martínez García. Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México, D.F., México 04960.

Pedro Abel Hernández García. Universidad del Estado de México, Centro Universitario Amecameca, 56900, México.

Oscar A. Villareal-Espino Barros. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Km. 7.5 Carretera Tecamachalco, Cañada Morelos, El Salado Tecamachalco, Puebla, México 75480. dr.oscarvillarreal@gmail.com

RESUMEN

El objetivo fue evaluar el efecto en dos niveles de nutrición y suplementación con bloques multinutricionales (BM) utilizando hierbas nutracéuticas sobre el crecimiento de corderos y emisiones de CH₄ y CO₂. Treinta y dos corderos en dos niveles de nutrición (dieta basal de mantenimiento (DBM) 9.36% PC, 2.35 Mcal EM/kg MS; dieta basal crecimiento (DBC) 13.75% PC, 2.73 Mcal EM/kg MS), en dos períodos (30 y 50 días). Los BM incluyen (Biocolina: OptiLisina: OptiMetionina) en proporción ((0:0:0), (3:0:0),

(3:0.75:0.25)) con grupo control sin suplementar. Las emisiones de CH₄ y CO₂ se estimaron utilizando digestibilidad y consumo *in vivo*. Se determinó cinética de producción de gas y digestibilidad *in vitro*. Los corderos en DBM mostraron bajo rendimiento(P<0.05), el grupo sin suplementar perdieron peso (-0.25^b g/d) la ganancia mejoró ligeramente con BM (24^{ab} g/d (3:0:0)), mostrando mayor respuesta (49^a g/d (3:0.75:0.25) y 46^a g/d (0:0:0)) con los bloques que contienen más proteína. Durante el periodo de crecimiento (DBC), las ganancias mejoraron (P<0.05), siendo más altas con los bloques que contenían más hierbas (215^a g/d (3:0.75:0.25)). El metano (0.555^b g/d) y dióxido de carbono (2.203^b g/d) disminuyeron (P <0.05) con el bloque (0:0:0) y sin suplementación (0.638^b CH₄ g/d; 2.532^b CO₂), la producción global de gas fue menor con bloque (3: 0.75: 0.25) reduciendo días de emisión. La digestibilidad *in vitro* de la MS mejoró linealmente (P=0.05). El uso de fuentes herbales puede ser utilizado en bloques para suplementar corderos, disminuyendo las emisiones de CH₄ y CO₂ al reducir el tiempo de engorda.

Palabras clave: colina. corderos. lisina. metionina. productos herbales.

INTRODUCCION

Para obtener un crecimiento adecuado en corderos se debe considerar un correcto balance de nutrientes que cubra las exigencias nutricionales de acuerdo a la etapa fisiológica en la que se encuentre el rumiante (NRC, 2007). En la etapa de crecimiento de ovinos se consideran limitantes la metionina y lisina por lo que varios estudios reportan mejor respuesta productiva al incluirlas en la dieta y de forma conjunta (Patton, 2010; Awawdeh, 2016; Han et al., 2016) y protegida de la degradación ruminal.

Otro nutriente poco considerado en nutrición ovina es la colina, cuyo metabolismo está relacionado con la metionina debido a que ambos son donadores de grupo metilo; pero además la colina interviene en la síntesis de fosfolípidos de membranas celulares y tiene funciones importantes en el transporte de lípidos hepáticos (Niculescu y Zeisel, 2002; Cole et al., 2012). Se han realizado estudios en rumiantes suplementando colina y metionina protegidos de la degradación ruminal con efectos positivos sobre la producción (Ardalan et al., 2010; Tsiplakou et al., 2017).

Existen reportes que indican que hay productos herbales con propiedades nutracéuticas que pueden aportar colina y aminoácidos (Hernández-Reyes et al., 2017, Rodríguez-Guerrero 2018) que por contener metabolitos de la planta (Hernández et al., 2007, FrAnKIČ et al., 2009) también pueden influir en la fermentación ruminal y podrían mejorar la digestibilidad y productividad de los animales e influir sobre la producción de gases efecto invernadero (Mao et al., 2010).

El nivel nutricional puede afectar la respuesta a los suplementos (Sinclair et al., 2014) y los bloques se han usado para complementar nutrientes en dietas de baja calidad con buenas respuestas en rumiantes (Usman et al., 2004; Unal et al., 2005). Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de dos niveles de nutrición y la suplementación con bloques multinutricionales que contienen productos herbales con propiedades nutracéuticas (lisina, metionina y colina) sobre la respuesta productiva, estimando el efecto en la emisión de gases efecto invernadero de corderos en crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

El Comité para el Cuidado y Uso de Animales de experimentación del Doctorado en Ciencias Agropecuarias Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco aprobó los procedimientos de este protocolo. El experimento se dividió en dos periodos con una duración de 30 y 50 días para el primer y segundo periodo respectivamente.

Se utilizaron 32 corderos (peso inicial 15.63 ± 2.86 Katahdin x criollo), los cuales recibieron vitaminas (Vigantol vitamina A, D y E de Bayer 2/ml) y fueron desparasitados (Closantel 5 mg/kg de PV) al inicio del experimento. Se usó un diseño completamente al azar distribuidos ($n=8$ borregos) donde se ofrecieron en dos periodos subsecuentes dos dietas con diferente nivel de nutrición (mantenimiento 9.36% PC, 2.35 Mcal EM/kg MS y para cubrir necesidades de crecimiento 13.75% PC, 2.73 Mcal EM/kg MS; NRC 2007). Se tuvo un grupo testigo y tres que recibieron tres bloques formulados para corderos en crecimiento considerando 100 g/d consumo de bloque (NRC, 2007; Cuadro 1) incluyendo productos herbales nutracéuticos Biocolina, OptiLisina y OptiMetionina (TechnoFeed, México, Nuproxa Suiza, Indian Herbs Co.) manteniendo una relación lisina: metionina (3:1) con una relación forraje: concentrado de 70:30 durante el periodo de mantenimiento y 50:50 en la ración de crecimiento. Los tratamientos suplementarios quedaron de acuerdo a la proporción de los productos herbales dentro del bloque (Biocolina: OptiLisina: OptiMetionina) quedaron: a) ración basal sin bloque, b) (0:0:0), c) (3:0:0), y d) (3:0.75:0.25). Los corderos recibieron alimento y agua *ad libitum*.

Se midió el consumo de alimento y de bloque por diferencia entre lo ofrecido y rechazado. Los corderos fueron pesados dos días consecutivos al inicio de cada periodo (día 0 y 1) y al final del experimento para estimar ganancia diaria de peso (GDP) y conversión alimenticia (relación de kg de consumo/ GDP). El alimento fue ofrecido a las 8:00 y 15:00

h. Se colectaron muestras de heces durante 4 días (Hernández et al., 2001) en el día 32 del segundo periodo para estimar digestibilidad de la materia seca usando cenizas ácido insolubles como marcador interno (Keulen y Young, 1977). Se determinó la composición química de raciones en cada periodo y bloques de materia seca, materia orgánica, proteína cruda (AOAC, 1995) y fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA) (Van Soest, 1994) (Cuadro 2). Se usaron las ecuaciones del IPCC (2007) para estimar el metano ruminal con el factor de emisión anual para ovinos, usando la digestibilidad de cada tratamiento con ecuaciones para ovinos (Cambra et al., 2008). Las emisiones de dióxido de carbono se estimaron a partir del consumo de carbohidratos digestibles (ARC, 1980), estimando los moles de hexosa fermentados en el rumen utilizando el peso molecular de la glucosa anhidra (Briceño et al., 2012). Se usó el patrón de fermentación de acuerdo a la relación forraje concentrado de cada periodo usando los datos reportados por Orskov et al., (1968) y mediante las ecuaciones estequiométricas de Wolin (1960) reportadas por Van Soest (1994) se calcularon los moles de CO₂ producidos. Se estimó la producción total de CH₄, CO₂, g/d en relación con los días que alcanza peso al mercado (Cuadro 5).

Producción de gas *in vitro*. Las muestras de las raciones y de bloques fueron secadas (55 °C), molidas (1 mm). Se utilizaron frascos (100 ml), el tratamiento control y los tratamientos considerando como sustrato una relación 70:30 (forraje:concentrado), a los cuales se les añadió el 10 y 20% de bloque de acuerdo al tratamiento siendo el primer porcentaje el equivalente al consumo promedio de bloque en el ensayo *in vivo*, manteniendo 500 mg por cada frasco. Los inóculos consistieron en líquido ruminal de dos borregos (34 ± 1.6 kg PV) alimentados en una relación 50:50 forraje: concentrado de la ración. Los frascos fueron incubados en condiciones anaeróbicas con 90 ml de un inóculo

diluido (1:10) de bacterias ruminantes obtenidas de corderos en ayuno. Los frascos fueron herméticamente sellados e incubados a 39 °C por 72 h en baño maría. El volumen de gas producido fue registrado a las 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 42, 48, 60 y 72 h, al final de la fermentación la materia residual (MS) se utilizó para calcular la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) a las 72 h de incubación, los tratamientos fueron incubados por triplicado. Los valores de presión fueron transformados a volumen de gas con la ecuación de regresión lineal $V = (P + 0.0186) (0.0237)^{-1}$, posterior se estimaron los parámetros de cinética de producción de gas: volumen máximo de gas (V_m ; ml g⁻¹ MS de sustrato), tasa de producción de gas (S ; h⁻¹) y tiempo lag de la fermentación (L ; h), con el modelo: $V_o = V_m / (1 + e^{(2-4 \cdot S \cdot (t-L))})$ (Menke y Steingass, 1988).

El CH₄ y el CO₂ *in vitro* se estimaron a partir del volumen máximo de gas y los ácidos grasos de cadena corta se calcularon con la ecuación de Getachew et al., (2002) usando la proporción de factores estequiométricos de 0.538 mmol para CO₂ y 0.348 mmol de CH₄ descritas para estudios *in vitro* (Blümmel et al., 1997).

Análisis estadístico. Los resultados de las variables productivas se analizaron mediante un Diseño Completamente al Azar con mediciones repetidas en tiempo (dos períodos) y las medias fueron comparadas con la prueba Tukey con un alfa de $P \leq 0.05$, usando el JMP (Herrera y García, 2010).

Los resultados del experimento *in vitro* se analizaron de acuerdo a un Diseño Completamente al Azar y se probaron los efectos lineal y cuadrático del nivel de inclusión de bloque (Steel et al., 1997). El nivel de bloque que promovía la máxima producción CH₄ y CO₂ se estimó a partir de la segunda derivada de la ecuación cuadrática (Myers, 1971).

Finalmente se realizó una correlación de variables evaluadas *in vitro* e *in vivo* (Steel et al., 1997).

RESULTADOS

La composición de las raciones se muestra en el Cuadro 1 donde se confirman las diferencias en nutrientes, destacando que para el periodo de mantenimiento el contenido de proteína fue menor que en el periodo de crecimiento (9.36 vs. 13.75 %) con cambios en otros elementos asociados a la ración forraje concentrado. La composición de los bloques se muestra en el cuadro 2 donde se aprecian diferencias en el contenido de proteína.

Respuesta productiva

Durante el período de mantenimiento (Cuadro 3) no se observaron diferencias significativas para las variables peso final, consumo de la ración y de bloque ($P>0.05$), pero si para ganancia diaria de peso donde los tratamientos suplementados obtuvieron limitadas ganancias a diferencia del tratamiento sin suplementar, donde los corderos mostraron pérdidas de peso ($P=0.012$).

Cuando los corderos recibieron la ración de crecimiento, se observaron diferencias ($P<0.05$) en consumo (ración y bloque) con diferencias en la ganancia de peso, donde el grupo sin suplemento tuvo las menores ganancias de peso (Cuadro 3). La eficiencia de utilización del alimento fue mayor para los tratamientos con bloque, siendo el bloque (0:0:0) el de mejor respuesta que sin bloque ($P=0.063$).

Emisiones de metano y dióxido de carbono

La emisión diaria de CH₄ y CO₂ se redujo ($P < 0.05$) con el bloque (0:0:0) que tuvo mayor concentración de proteína y con el tratamiento basal en el periodo de crecimiento. A pesar de que la emisión diaria del tratamiento (3:0.75:0.25) fue mayor, al mejorar la ganancia de peso y reducir el tiempo de engorda el impacto global de metano y dióxido de carbono es menor (Cuadro 5). La suplementación con bloques en promedio reduce el metano en un 68.2% y el dióxido de carbono en 63.7%.

Cinética de gas in vitro

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca del tratamiento (3:0.75:0.25) se incrementó en forma lineal al aumentar la proporción de bloque ($P=0.05$) y efecto cuadrático para las variables volumen de gas, tasa de producción y tiempo lag ($P<0.0001$). En el bloque sin productos herbales (0:0:0) las variables CH₄ y CO₂ presentaron una respuesta cuadrática a medida ($P<0.05$) y la concentración máxima de gases se estimó con 9.5 % de inclusión de bloque.

DISCUSIÓN

Los resultados indican que el nivel de proteína en la ración tiene un efecto importante en el crecimiento; con efecto limitante en raciones de mantenimiento sobre la ganancia diaria de peso, coincidiendo con resultados de Dabiri y Thonney, (2004) donde los corderos mostraron respuesta lineal en la ganancia diaria de peso y peso final al aumentar el nivel de proteína en la dieta. Los resultados son similares a los de Kaya et al., (2009) quienes observaron menores ganancias de peso con 10% de proteína cruda en comparación con 13% de proteína. Además, al aumentar el nivel de proteína se mejora el consumo, reflejándose en mayores nutrientes (Hatfield et al., 1998)

En el periodo de crecimiento el consumo mejoró, siendo menor con el tratamiento que carecía de productos herbales y en el grupo sin suplemento. Algunos nutrientes pudieron estimular el consumo; la colina ha mejorado el consumo en ganado lechero (Zom et al., 2011), pero otros no, por ejemplo, los aminoácidos en rumiantes no tienen impacto en consumo; Beaty et al., (1994) suplementaron con lisina protegida a vacas y no se modificó el consumo. Los efectos de aportar diversos nutrientes se detectan en los cambios de peso. Experimentos con nutrientes evaluados muestran que cada uno puede tener impacto, por ejemplo, Alonso-Meléndez et al., (2016) suplementaron cabras lactantes con metionina protegida y observaron una respuesta lineal a la dosis en el peso vivo.

La conversión fue menos eficiente para el tratamiento sin suplementar y no se detectaron diferencias entre suplementos, presumiblemente por el reducido número de repeticiones, sin embargo, en un experimento donde se incluyó Biocolina con o sin metionina protegida, Rodríguez-Guerrero et al., (2018) tampoco detectaron diferencias en la eficiencia de utilización del alimento en corderos en crecimiento lo que atribuyeron a una deficiencia de lisina en la dieta; la relación lisina metionina fue mantenida 3:1 en este experimento al formular bloques con productos herbales.

La digestibilidad no presentó diferencias significativas en el ensayo *in vivo*. Sánchez et al., (2012) con metionina protegida suplementando dietas con rastrojo tratado tampoco encontraron cambios en ovinos y Rodríguez-Guerrero et al., (2018) al incluir metionina protegida y BioColina tampoco, sin embargo; existe un reporte de incrementos en la digestibilidad en respuesta al suministro de colina (El-Gendy et al., 2012).

En el ensayo *in vitro* al suplementar con la combinación de productos herbales (3:0.75:0.25) la digestibilidad se incrementó. Hay pocas evaluaciones de estos productos *in vitro*, Nam et al., (2014) no tuvieron diferencias en digestibilidad con lisina y metionina protegidas lo cual se puede explicar porque los aminoácidos son degradados por las bacterias. Sin embargo, la Biocolina aporta conjugados totales de colina en forma de fosfolípidos y las bacterias Gram-negativas tienen fosfatidilcolina (Aktas et al., 2010) y además los productos herbales contienen otros metabolitos; Mendoza et al., (2018) reportaron más de 100 metabolitos en cada uno de estos productos herbales entre los que destacan α -Phellandrene, α -ionone, Trans-2-Undecenal, 2 Pentanol and Z 2 Octenal y 4-vinylguaiacol con propiedades bacteriostáticas, bactericidas, antioxidantes y antinflamatorias (Esatbeyoglu et al., 2015; An et al., 2017) que deben estudiarse sus efectos en los microorganismos ruminantes.

Beauchemin et al., (2008) indican que el uso de algunas plantas que contienen metabolitos secundarios pueden reducir la producción de metano. A pesar de que la producción de metano y CO₂ para el bloque con productos herbales (3:0.75:0.25) fue mayor, la estimación de gases de efecto invernadero debe de hacerse en forma global dado que al mejorar el consumo y la ganancia se reducen los días de emisión; Charmley et al., (2008) confirman que si se reducen los días al sacrificio por mejor crecimiento asociado a calidad de la dieta, se impacta en las emisiones totales de gases lo que coincide con los resultados de este estudio.

CONCLUSIÓN

La inclusión de fuentes herbales puede ser utilizado en bloques para suplementar corderos en crecimiento. Es importante que las raciones cumplan los requerimientos de proteína y energía, pues los bloques pueden ayudar en condiciones limitantes pero no compensan totalmente raciones de baja calidad. La suplementación con bloques permite reducir las emisiones de metano y dióxido de carbono al reducir el tiempo de engorda por lo que se puede impactar significativamente en las emisiones de gases efecto invernadero.

Agradecimientos. Se agradece a TechnoFeed México, Nuproxa Switzerland, Indian Herbs la donación de los productos herbales

Los autores no tienen conflictos de intereses en este trabajo.

REFERENCES

- Abdi-Benemar H, Dehghan-Banadaky M, Rezayazdi K, Abdollahi Y (2016). The Comparison of the Amount of Methionine Supply by Different Rumen-Protected Methionine Sources. *Journal of Agricultural Science and Technology* 18: 1773-1780.
- Aktas, M., Wessel, M., Hacker, S., Klüsener, S., Gleichenhagen, J., & Narberhaus, F. (2010). Phosphatidylcholine biosynthesis and its significance in bacteria interacting with eukaryotic cells. *European journal of cell biology*, 89(12), 888-894.
- Alonso-Mélendez E, Mendoza GD, Castrejón-Pineda FA, Ducoing-Watty AE (2016). Milk production in dairy goats supplemented with different levels of ruminally protected methionine. *Journal of Dairy Research* 83: 148-150.

An FL, Sun DM, Li RJ, Zhou MM, Yang MH, Yin Y, Kong LY, Luo J (2017). Walrobsins A and B, Two Anti-inflammatory Limonoids from Root Barks of Walsura robusta. *Organic letters* 19: 4568-4571.

AOAC, 1995. *Association of Official Analytical Chemists. Methods of Analysis.* Washington D.C., USA.

ARC. 1980. *The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock.* Common wealth Agricultural Bureax, Surrey, UK.

Ardalan M, Rezayazdi K, Dehghan-Banadaky M (2010). Effect of rumen-protected choline and methionine on physiological and metabolic disorders and reproductive indices of dairy cows. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 94. DOI: 10.1111/j.1439-0396.2009.00966.x

Awawdeh MS (2016). Rumen-protected methionine and lysine: effects on milk production and plasma amino acids of dairy cows with reference to metabolisable protein status. *Journal of Dairy Research* 83: 151-155.

Beaty JL, Cochran RC, Lintzenich BA, Vanzant ES, Morrill JL, Brandt RT, Johnson DE (1994). Effect of frequency of supplementation and protein concentration in supplements on performance and digestion characteristics of beef cattle consuming low-quality forages. *Journal of Animal Science* 72: 2475-2486.

Beauchemin KA, Kreuzer M, O'mara F, McAllister TA (2008). Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48: 21-27.

Blümmel M; Steingaß H, Becker K (1997). The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and ¹⁵N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition* 77: 911-921.

Briceño PEG, Ruiz GA, Chay CAJ, Ayala BAJ, Aguilar PCF, Solorio SFJ, Ku VJC 2012. Voluntary intake, apparent digestibility and prediction of methane production by rumen stoichiometry in sheep fed pods of tropical legumes. *Animal Feed Science and Technology* 176: 17-122.

Cambrà-López M, García-Rebollar P, Estellés F, Torres A (2008). Estimación de las emisiones de los rumiantes en España: El Factor de Conversión de Metano. *Archivos de Zootecnia* 57: 89-101.

Charmley E, Stephens ML, Kennedy PM (2008). Predicting livestock productivity and methane emissions in northern Australia: development of a bio-economic modelling approach. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48: 109-113.

Cole LK, Vance JE, Vance DE (2012). Phosphatidylcholine biosynthesis and lipoprotein metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids* 1821: 754-761.

Dabiri N, Thonney ML (2004). Source and level of supplemental protein for growing lambs. *Journal of animal science* 82: 3237-3244.

El-Gendy ME, El-Riedy KF, Sakr HS, Gaafar HM (2012). Effect of rumen protected methionine and/or choline additives on productive performance of Zaraibi goats. *Nature and Science* 10: 35-41.

Esatbeyoglu T, Ulbrich K, Rehberg C, Rohn S, Rimbach G (2015). Thermal stability, antioxidant, and anti-inflammatory activity of curcumin and its degradation product 4-vinyl guaiacol. *Food Functional* 6: 887-893.

FrAnKIČ T, Voljč M, Salobir J, Rezar V (2009). Use of herbs and spices and their extracts in animal nutrition. *Acta agriculturae slovenica* 94: 95-102.

Getachew G, Makkar HPS, Becker K (2002). Tropical browses: contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. *The Journal of Agricultural Science* 139: 341-352.

Han Y, Qu Y, Yuan X, Wang Z, Yin X, Li W., Pan Q, Wang G, Gao Y (2016). Effects of Rumen-Protected Methionine and Lysine Supplementation on Growth Performance and Carcass Chemical Composition of Holstein Bulls. *Chinese Journal of Animal Nutrition* 2: 015.

Hatfield PG, Hopkins JA, Ramsey WS, Gilmore A (1998). Effects of level of protein and type of molasses on digesta kinetics and blood metabolites in sheep. *Small Ruminant Research* 28: 161-170.

Hernández LAN, Bautista BS, Velázquez del Valle MG (2007). Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30: 119-123.

Hernández PA, Mendoza GD, Castro A, Lara A, Plata FX, Martínez JA, Ferraro S (2001). Effects of grain level on lamb performance, ruminal metabolism and leptin mRNA expression in perirenal adipose tissue. *Animal Production Science* 57: 2001-2006.

Hernández-Reyes JC, Lara-Bueno A, Miranda-Romero LA, Mendoza GD, Martínez D. (2017). *Evaluación de Productos Herbales como aditivos en raciones de finalización de ovinos*. XVIII Congreso Bienal Amena. Puerto Vallarta Jal.

Herrera J.G. y García C. 2010. Bioestadística en Ciencias Veterinarias, Procedimientos de análisis de datos con SAS. Editorial Universidad Complutense de Madrid.

IPCC (2007). Fourth Assessment Report: *Climate Change. Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge.

Kaya I, Unal Y, Sahin T, Elmali D (2009). Effect of different protein levels on fattening performance, digestibility and rumen parameters in finishing lambs. *Journal Animal Veterinary Advances* 8: 309-312.

Keulen V, Young BA. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science* 44: 282-287.

Mao HL, Wang JK, Zhou YY, Liu JX (2010). Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. *Livestock Science* 129: 56-62.

Mendoza GD, Oviedo MF, Pinos JM, Lee-Rangel HA, Vázquez A, Rojo R, Guerrero ML, Pérez F (2018). Milk production in dairy cows supplemented with herbal choline and methionine. In press.

Menke KH, Steingass H (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research Development Journal* 27:7-55.

Myers RH (1971). *Response surface methodology*. Library of Congress. United States of America; p 68.

Nam, I. S., Choi, J. H., Seo, K. M., & Ahn, J. H. (2014). In vitro and lactation responses in mid-lactating dairy cows fed protected amino acids and fat. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 27(12), 1705.

Niculescu MD, Zeisel SH (2002). Diet, methyl donors and DNA methylation: interactions between dietary folate, methionine and choline. *The Journal of nutrition* 132: 2333S-2335S.

NRC (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids, First ed. National Research Council, National Academic Science, Washington, DC, USA.: p 292.

Orskov ER, Flatt WP, Moe PW (1968). Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of volatile fatty acid formation in ruminants. *Journal of Dairy Science* 51: 1429–1435.

Patton RA (2010). Effect of rumen-protected methionine on feed intake, milk production, true milk protein concentration, and true milk protein yield, and the factors that influence these effects: A meta-analysis. *Journal of dairy science* 93: 2105-2118.

Rodríguez-Guerrero V, Lizarazo AC, Ferraro S, Suárez N, Miranda LA, Mendoza GD (2018). Effect of herbal choline and rumen-protected methionine on lamb performance and blood metabolites. *South African Journal of Animal Science* 48 DOI 10.4314/sajas.v48i1.16. Accepted Article

Sall, J, Lehman A, Stephens M, Creighton L (2012). JMP® start statistics: a guide to statistics and data analysis.5th ed. SAS Institute Inc.: Cary, NC.

Sánchez AE, Ortega CME, Mendoza MGD, Montañez VOD, Buntinx DSE (2012). Rastrojo de maíz tratado con urea y metionina protegida en dietas para ovinos en crecimiento. *Interciencia* 37: 395-399.

Sinclair KD, Garnsworthy PC, Mann GE, Sinclair LA (2014). Reducing dietary protein in dairy cow diets: Implications for nitrogen utilization, milk production, welfare and fertility. *Animal* 8: 262-274.

Steel GDR, Torrie JH, Dickey DA (1997). *Principles and procedures of statistics. A biometrical approach*: McGraw-Hill. New York; p 637.

Tsiplakou E, Mavrommatis A, Kalogeropoulos T, Chatzikonstantinou M, Koutsouli P, Sotirakoglou K, Labrou N, Zervas G (2017). The effect of dietary supplementation with rumen-protected methionine alone or in combination with

rumen-protected choline and betaine on sheep milk and antioxidant capacity.

Journal of animal physiology and animal nutrition 101: 1004-1013.

Unal Y, Kaya I, Oncuer A (2005). Use of urea – molasses mineral blocks in lambs fed with straw. *Revue Medicine Veterinary* 156: 217-220.

Usman FM, Siddiqui MM, Habib G (2004). Effect urea – molasses block supplementation on nutrient digestibility and intake of ammoniated maize stovers in cow – calves. *Pakistan Veterinary Journal* 24: 13-17.

Van Soest PJ (1994). *Nutritional ecology of the ruminants*. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press. Ithaca USA and London UK.

Wolin JM (1960). A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of Dairy Science*. 40: 1452-1459.

Zom RLG, Van Baal J, Goselink RMA, Bakker JA, De Veth MJ, Van Vuuren AM (2011). Effect of rumen-protected choline on performance, blood metabolites, and hepatic triacylglycerols of periparturient dairy cattle. *Journal of dairy science* 94: 4016-4027.

Tabla 1. Formulación de bloques experimentales (Biocolina: lisina: metionina)

	(0:0:0)	(3:0:0)	(3:0.75:0.25)
Melaza	40	40	40
Maíz molido	9.85	9	9
Pasta de soya	10	5	5
Urea	10	10	10
Cemento	5.15	5.85	4.85
Premezcla mineral	6	6	6
Cal	5	4	4
Sulfato de sodio	0	1	1
Ovi3 ways	0	0.15	0.15
Rastrojo maíz	13	13	13
Biocolina	0	3	3
Propionato de sodio	0	1	1
Hexametafosfato de sodio	0	2	2
Metionina	0	0	0.25
Lisina	0	0	0.75
Sal	1	0	0
TOTAL	100	100	100

Vitasal Engorda Ovinos Plus®: Ca 270 g, P 30 g, Mg 7.5 g, Na 65.5 g, Cl 100, K 0.5 g, S 42 mg, Lasolacida 2000 mg, Mn 2000 mg, Zn 3000 mg, Se 20 mg, Co 15 mg, vitamina A 35,000 UI, vitamina D 150,000 UI y vitamina E 150 UI.

Tabla 2. Composición química de los bloques, periodo de mantenimiento y crecimiento

	Ración basal		Bloques (Biocolina: lisina: metionina) %		
	Mantenimiento	Crecimiento	(0:0:0)	(3:0:0)	(3:0.75:0.25)
MS, %	95.09	89.75	93.98	95.46	89.36
MO, %	94.90	95.41	80.89	77.02	78.42
Cenizas, %	5.10	4.59	19.11	22.98	21.58
PC, %	9.36	13.75	40.63	35.13	39.87
FDN, %	48.71	48.20	17.04	13.63	18.68
FDA, %	21.19	17.06	5.66	3.66	7.59
EE, %	1.47	2.06	2.44	1.31	0.55
ME Mcal/kg		2.73	2.96	2.89	2.99

MS: materia seca; MO: materia orgánica; PC: proteína cruda; FDN: fibra detergente neutro;

FDA: fibra detergente ácida; EE: extracto etéreo; EM: energía metabolizable, 100%

requerimiento NRC.

Tabla 3. Respuesta productiva en periodos mantenimiento y crecimiento, estimación CH₄, CO₂

	Ración basal	(0:0:0)	(3:0:0)	(3:0.75:0.25)	EEM	P
<i>Mantenimiento</i>						
Peso inicial, kg	16.31	15.81	15.31	15.08	0.62	0.845
Peso final, kg	15.7	17.28	16.08	16.67	0.73	0.831
CMS, kg	0.542	0.512	0.466	0.529	0.81	0.729
Consumo bloque, g/d	0	86.63	74.88	83.88	0.84	0.0001
Consumo total, kg	0.542	0.598	0.541	0.613	0.85	0.720
GDP, g	-0.25 ^b	46 ^a	24 ^{ab}	49 ^a	0.86	0.012
<i>Crecimiento</i>						
Peso inicial, kg	16.90	16.88	16.87	16.90	1.25	1.000
Peso final, kg	23.56 ^b	25.78 ^{ab}	26.91 ^{ab}	27.67 ^a	0.50	0.0001
CMS, kg	1.02	0.95	0.99	1.08	0.07	0.0001
Consumo bloque, g/d	0.00	138.3	104.43	94.19	0.02	0.0001
Consumo total, kg	1.121 ^{ab}	0.945 ^b	1.084 ^{ab}	1.222 ^a	0.001	0.0001
GDP, g	134 ^b	198 ^{ab}	200 ^{ab}	215 ^a	0.50	0.003
CA	10.41 ^a	4.78 ^b	5.97 ^{ab}	5.88 ^{ab}	0.57	0.063
Digestibilidad, %	75.67	81.98	79.92	82.67	0.95	0.341
CH ₄ , g/d	0.638 ^b	0.555 ^b	0.666 ^{ab}	0.776 ^a	0.002	0.0001
CO ₂ , g/d	2.532 ^b	2.203 ^b	2.647 ^{ab}	3.080 ^a	0.002	0.0001

Consumo de materia seca (CMS), ganancia diaria de peso (GDP), conversion alimenticia (CA),

metano (CH_4), dioxido de carbono (CO_2), ^{abc}Literales diferentes en la fila son diferentes ($P<0.05$)

Tabla 4. Respuesta de cinética de gas (0:0:0, 3:0:0, 3:0.75:0.25)

	Vm, ml	s, h ⁻¹	Lag, h	DIVMS, %	CH ₄ , mol	CO ₂ , mol
Ración basal	348.1	0.0307	2.54	63.59	43.112	182.87
(0:0:0)						
10%	369.80	0.326	2.49	64.47	45.801	194.28
20%	325.43	0.034	3.07	65.69	40.303	170.95
<i>Lineal</i>	0.23	0.18	0.91	0.16	0.03	0.03
<i>Cuadrático</i>	0.74	0.03	0.02	0.98	0.01	0.01
(3:0:0)						
10%	358.53	0.031	2.02	65.13	44.405	188.35
20%	354.33	0.033	2.46	66.77	43.885	186.15
<i>Lineal</i>	0.10	0.03	0.80	0.33	0.38	0.38
<i>Cuadratico</i>	0.79	0.07	0.29	0.22	0.37	0.37
(3:0.75:0.25)						
10%	355.37	0.030	2.10	66.34	44.013	186.69
20%	356.13	0.033	2.32	65.01	44.108	187.09
<i>Lineal</i>	0.26	0.02	0.08	0.05	0.53	0.53
<i>Cuadrático</i>	0.004	0.0005	0.0009	0.71	0.76	0.76
EEM	0.0005	0.150	0.626	0.114	0.569	0.569

^{abc} Literales diferentes dentro de la fila son diferentes ($P < 0.05$); Vm: volumen maximo de gas, s: tasa de producción de gas, Lag: fase lag, DIVMS: digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

Table 5. Estimación de gases efecto invernadero utilizando distintos bloques multinutricionales

	Ración basal	(0:0:0)	(3:0:0)	(3:0.75:0.25)
Peso inicial	16.89	16.89	16.89	16.89
Peso al mercado	45	45	45	45
Días para llegar	209.8	142.0	140.6	130.8
CH ₄ , g/d	133.85	78.80	93.61	101.47
CO ₂ , g/d	531.20	312.79	372.07	331.07