CHEMICAL COMPOSITION AND *In vitro* RUMINAL FERMENTATION OF CAYMAN (BR/1752) AND COBRA (BR/1794) GRASSES GROWN UNDER SALT STRESS CONDITIONS †

[COMPOSICIÓN QUÍMICA Y FERMENTACIÓN RUMINAL *in vitro* DE LOS PASTOS CAYMAN (BR/1752) Y COBRA (BR/1794) CRECIDOS EN CONDICIONES DE ESTRÉS SALINO]

Serafín Jacobo López-Garrido[1], Silvia Santos-Jerónimo[2], Edgar Iván Sánchez-Bernal[2], Mónica Marcela Galicia-Jiménez*[2], Narciso Ysac Ávila-Serrano[3], Marco Antonio Camacho Escobar[4], Paulino Sánchez Santillan[5] and David Hernández Sánchez[6]

[1]Licenciatura en Zootecnia, Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido, Carretera a Oaxaca vía Sola de Vega Km 1.5, Puerto Escondido, C.P. 71980, San Pedro Mixtepec, Oaxaca, México
Email: serafin@zicatela.umar.mx
[2]Posgrado en Producción y Sanidad Animal, Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido, Carretera a Oaxaca vía Sola de Vega Km 1.5, Puerto Escondido, C.P. 71980, San Pedro Mixtepec, Oaxaca, México
Emails: silsanjer@gmail.com, edgarivansb@zicatela.umar.mx, mmgaliciaj@gmail.com
[3]Cuerpo Académico Ciencias Agropecuarias, Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido, Carretera a Oaxaca vía Sola de Vega Km 1.5, Puerto Escondido, C.P. 71980, San Pedro Mixtepec, Oaxaca, México
Email: reval1997@hotmail.com
[4]Campo Experimental, Universidad del Mar, Carretera Federal Pinotepa Nacional-Puerto Escondido Km 128.1, Bajos de Chila Oaxaca, México. Email: mar_cama@msn.com
[5]Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No.2, Universidad Autónoma de Guerrero, Carretera Acapulco-Pinotepa Nacional Km 197, Cuajinicuilapa, C.P. 41940, Guerrero, México. Email: sanchezsantillanp@gmail.com
[6]Programa de Ganadería, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco Km36.5, Montecillo, Texcoco, C.P.56240, Estado de México, México. Email: sanchezd@colpos.mx
**Corresponding author*

SUMMARY

Background. The saline stress of tropical soils affects the growth and nutritional composition of pastures, therefore the availability and quality of forage for livestock is affected. Salinity can reduce crude protein content and increase the neutral detergent fiber (NDF) ratio of grasses. This can decrease ruminal degradability, microbial populations, and alter the production of volatile fatty acids (VFA), which are the main source of energy for ruminants. On the other hand, an increase in NDF in pastures can increase the emission of methane (CH_4). For this reason, it is necessary to generate sufficient information on the nutritional quality of pastures grown in saline soils and their ruminal fermentation patterns. **Objective**. Evaluate hybrid grasses of the genus Urochloa, Cayman and Cobra grown in five concentrations of salinity, to determine their effect during *in vitro* ruminal fermentation, on chemical composition, degradability, fermentation parameters, ruminal microorganisms, on the production of CH_4 and CO_2. **Methodology**. Five experimental treatments were evaluated: salinity levels for both pastures of 0, 2, 4, 6, 10 dS m^{-1} of NaCl. The chemical composition of the two experimental grasses was determined, and subsequently they were incubated *in vitro* in a culture medium for total bacteria with the addition of fresh ruminal fluid, to determine dry matter degradability (DIVMS), ruminal fermentation parameters, microbial populations, and biogas production. **Results.** Cayman grass presented higher ($P<0.05$) ash content and ether extract at CE $\geq$ 4 dS m^{-1}; however, its crude protein content decreased. In Cobra grass there was also protein reduction at 10 dS m^{-1}. In both DIVMS grasses, AGV and CH_4 production were

† *Submitted December 3, 2021 – Accepted June 8, 2022.* https://doi.org/10.56369/tsaes.4124

Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
ISSN: 1870-0462.

not affected by salinity, nor were there changes in the count of ruminal microorganisms. **Implications.** The results of the present study evaluate the effect of salinity on crude protein content and cell walls of Cayman and Cobra grasses grown under salinity stress. It was determined that salinity does not affect the degradability or ruminal fermentation patterns of the pastures studied. **Conclusions.** With a salinity level of 10 dS $m^{-1,}$ the protein of Cayman and Cobra grasses decreased 8.42% and 18.0%, respectively. The salinity levels studied do not affect IVDMD, microbial population, or CH_4 production during *in vitro* ruminal fermentation of the evaluated species.
Key words: Cayman and Cobra; chemical composition; salinity; fermentation; methane.

RESUMEN

Antecedentes. El estrés salino de los suelos del trópico afecta el crecimiento y la composición nutritiva de los pastos, como consecuencia se afecta la disponibilidad y calidad de forraje para el ganado. La salinidad puede reducir el contenido de proteína cruda y aumentar la proporción de fibra detergente neutra (FDN) de los pastos. Lo anterior puede disminuir la degradabilidad ruminal, las poblaciones microbianas, y alterar la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) que son la principal fuente de energía para los rumiantes. Por otra parte, un aumento de FDN en los pastos puede incrementar la emisión de metano (CH_4). Por tal motivo, se requiere generar información suficiente sobre la calidad nutritiva de los pastos cultivados en suelos salinos y sus patrones de fermentación ruminal. **Objetivo.** Evaluar los pastos híbridos del género *Urochloa*, Cayman y Cobra crecidos en cinco concentraciones de salinidad, para determinar su efecto durante la fermentación ruminal *in vitro*, sobre la composición química, degradabilidad, parámetros de fermentación, microorganismos ruminales, en la producción de CH_4 y CO_2. **Metodología.** Se evaluaron cinco tratamientos experimentales: niveles de salinidad, para ambos pastos de 0, 2, 4, 6, 10 dS m^{-1} de NaCl. A los dos pastos experimentales se les determinó la composición química, y posteriormente fueron incubados *in vitro* en medio de cultivo para bacterias totales con adición de fluido ruminal fresco, para determinar degradabilidad de materia seca (DIVMS), parámetros de fermentación ruminal, poblaciones microbianas y producción de biogás. **Resultados.** El pasto Cayman presentó mayor ($P<0.05$) contenido de ceniza y extracto etéreo a CE ≥ 4 dS m^{-1}; sin embargo, disminuyó su contenido de proteína cruda. En el pasto Cobra también se presentó reducción de proteína a 10 dS m^{-1}. En ambos pastos DIVMS, producción de AGV y de CH_4 no fueron afectados por la salinidad, ni se presentaron cambios en el conteo de microorganismos ruminales. **Implicaciones.** Los resultados del presente estudio evalúan el efecto de la salinidad sobre el contenido de proteína cruda y paredes celulares de los pastos Cayman y Cobra crecidos en estrés salino. Se determinó que la salinidad no afecta la degradabilidad ni los patrones de fermentación ruminal de los pastos estudiados. **Conclusiones.** Con nivel de salinidad de 10 dS m^{-1} la proteína de los pastos Cayman y Cobra disminuyó 8.42% y 18.0%, respectivamente. Los niveles de salinidad estudiados no afectan no afectan DIVMS, población microbiana, ni producción de CH_4 durante la fermentación ruminal *in vitro* de las especies evaluadas.
Palabras clave: Cayman (BR/1752) y Cobra (BR/1794); composición química; salinidad; fermentación; metano.

INTRODUCCIÓN

Los pastos tropicales Cayman (BR/1752) y Cobra (BR/1794) híbridos del género *Urochloa*, tienen mayor producción de materia seca, porcentajes de digestibilidad y contenido de proteína cruda, además de ser tolerantes a la sequía en comparación con otras *brachiarias* (Pizarro *et al*., 2013). Sin embargo, la composición química de estos pastos es afectada por la lluvia o sequía, lo que influye en la producción y calidad de biomasa (Pratti-Daniel *et al*., 2019). Además de las condiciones climatológicas, influyen el manejo agronómico y condiciones de estrés abiótico como la salinidad del suelo. El estrés salino afecta el crecimiento, la composición química y la digestibilidad de los pastos, como consecuencia se reduce la disponibilidad y la calidad del forraje para la alimentación del ganado (Martínez-Villavicencio *et al*., 2011). Las principales sales que afectan a los forrajes son los cloruros, sulfatos de sodio, calcio y magnesio; cuyos iones Na^+, Cl^- y SO_4 son los principales elementos tóxicos (González-Romero *et al.*, 2011). Los pastos no se desarrollan adecuadamente en suelos que poseen más de 0.1% de NaCl en relación con su peso seco. (Fernández-Martínez, 2010). El estrés salino también afecta la deposición secundaria de la pared celular de las plantas, por lo que puede aumentar la concentración de FDN y provocar disminución de FDA (Glover *et al*., 2004; Elfeel y Bakhashwain, 2012). Sánchez-Bernal *et al*. (2020) evaluaron la emergencia, crecimiento y producción de biomasa en los pastos Cayman (BR/1752) y Cobra (BR/1794) bajo condiciones de invernadero y sometidos a estrés salino por NaCl; los pastos fueron sometidos a siete niveles de conductividad eléctrica (CE): 0, 2, 4, 6, 10, 12 y 15 dS m^{-1}. Se determinó que, al aumentar la CE de las soluciones salinas, disminuyeron el porcentaje de emergencia, la altura y el diámetro del tallo, el número de hijuelos y el número de hojas; lo cual produjo la disminución de la producción de biomasa, teniendo mayor impacto en el pasto Cayman. El pasto Cayman fue sensible a las altas concentraciones de sal NaCl y el pasto Cobra fue moderadamente tolerante.

Se ha reportado que la salinidad de los suelos no afecta el contenido de cenizas y extracto etéreo de los pastos (Boga *et al.*, 2014; Kaplan *et al.*, 2017); sin embargo, puede reducir el contenido de proteína cruda (Fuentes *et al*., 2008, Abdelhamid-Magdi *et al*., 2013). La disminución de la proteína en condiciones de estrés salino se debe a la reducción de absorción de nitrato (NO_3) por la raíz; una menor absorción de nitrógeno por la planta ocasiona menor síntesis de aminoácidos y como consecuencia de proteínas (Müller-Queiroz *et al*., 2012).

También se ha determinado una disminución de los porcentajes de degradabilidad de los forrajes crecidos bajo estrés de salinidad (Glover *et al*., 2004; Worku-Daba *et al*., 2019). La degradabilidad ruminal de los pastos está estrechamente relacionada con los porcentajes de FDA y FDN, a mayor contenido de fibra disminuye el porcentaje de degradabilidad en rumen (Segura *et al.*, 2007).

Según Attia-Ismail (2015), cuando los rumiantes son alimentados con forrajes crecidos en condiciones de salinidad puede alterar el desarrollo de las poblaciones microbianas del rumen, lo cual afecta los patrones de fermentación ruminal y la producción de ácidos grasos volátiles (AGV), que son la principal fuente de energía para estos animales (Attia-Ismail, 2015). Además, la producción de biogás durante la fermentación ruminal puede ser modificada por la salinidad de los pastos. En estudios de fermentación *in vitro* se ha reportado que la producción de metano (CH_4) y bióxido de carbono (CO_2) no resulta afectada en los pastos crecidos en estrés de salinidad (Robinson *et al.*, 2004, Kara *et al.*, 2016). En contraste, Kaplan *et al.* (2017) reportaron incrementos de 31% en la producción de biogás total y 57% en las emisiones de CH_4 al incrementar la CE de 0 dS m^{-1} a 8 dS m^{-1} durante el crecimiento de los pastos.

Aún es escasa la información sobre el impacto que tienen las altas concentraciones de sales del suelo en la composición química, degradabilidad, parámetros de fermentación, producción de CO_2 y CH_4 de los forrajes tropicales, particularmente en los pastos mejorados, por lo que el objetivo del presente estudio fue evaluar los pastos mejorados Cayman y Cobra, híbridos del género *Urochloa*, crecidos en cinco niveles de salinidad para determinar el efecto sobre la composición química, la degradabilidad, parámetros de fermentación, población de microorganismos ruminales y producción de CH_4 y CO_2, durante la fermentación ruminal *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de Estudio

La investigación se realizó en los Laboratorios de Bioquímica y Nutrición y Microbiología de la Universidad del Mar Campus Puerto Escondido, ubicados en el Campo Experimental localizado en Bajos de Chila, municipio de San Pedro Mixtepec, Juquila, Oaxaca, en el kilómetro 128.1 de la carretera Federal Pinotepa Nacional-Puerto Escondido ubicado entre las coordenadas 15º 55' 27.54" N y 97° 09' 04.09" O y altitud de 12 m snm. El clima predominante es cálido subhúmedo, clasificado como A(c) w2 y Aw0 (García, 2004) con dos estaciones marcadas, lluviosa y de secas, con intervalos de temperatura media anual entre 22 a 26 °C y una precipitación pluvial de 930.8 a 1668.0 mm por año.

Obtención de las muestras y tratamientos

Los pastos utilizados fueron Cayman y Cobra, híbridos del género *Brachiaria*, cultivados en condiciones de invernadero sometidos a cinco niveles de salinidad, 0, 2, 4, 6, 10 dS m^{-1} que correspondieron a concentraciones teóricas de 0, 1280, 2560, 3840, 6400 mg L^{-1} de NaCl. Los pastos se sembraron en bolsas negras de polietileno, cada bolsa fue llenada con 2 Kg del sustrato agrolita y 2.5 L de solución salina para el testigo solo se le agregó agua destilada. Además, a las bolsas con agrolita se les aplicó el fungicida Captan Ultra 50 WP® (N-triclorometilo, ciclohex-4-1,2 dicarboximida), de la empresa (Arysta Life Science México, S.A. de C. V.), a dosis de 2 g L^{-1} para prevenir contaminación por hongos. Para la siembra se utilizó semilla certificada de la empresa Grupo Papalotla, se depositaron 25 semillas en cada bolsa. Posterior a la siembra se regó con agua destilada cada tercer día para reponer el agua perdida por evapotranspiración. Como medio de nutrición se agregó una solución universal de Steiner con formula 15-30-15 a dosis de tres g L^{-1}, se realizaron tres aplicaciones en agua de riego a 15, 30 y 45 d posteriores a la siembra. Para la prevención de plagas se realizaron tres aplicaciones foliares con extracto vegetal, la cual se preparó con 0.25 Kg de *Capsicum annuum L*. y 0.25 Kg de *Allium sativum L*., el extracto se diluyó en cinco litros de agua para su aplicación. Los pastos con sus tratamientos fueron cosechados a 60 días posteriores a la siembra en el centro de Investigación de Pastos Tropicales (CIPAT) del Grupo Papalotla S.A. de C.V., en Santa Elena, Municipio de Santa María Tonameca, Oaxaca (15° 44' 20.53" N, 96° 50' 45.77" O). El clima de la región es cálido subhúmedo Aw2, con precipitación media anual de 1213 mm y temperatura media anual entre los 24 y 27.2 °C (Serrano-Altamirano *et al*., 2005).

A las muestras se les determinó la humedad y materia seca en un horno de secado (Felisa®, México) a 65 °C

durante 48 h (Herrera, 2014). De las muestras secas se molieron los tallos y las hojas en un molino industrial (Ika® Werke MF 10, U.S.A.) y tamizadas con malla de 1 mm (Williams, 2000). Se evaluaron cinco tratamientos para cada uno de los pastos, en total se evaluaron 10 tratamientos, cada tratamiento contó con seis repeticiones dando un total de 60 unidades experimentales para los dos pastos.

Análisis químico de los pastos

A las muestras obtenidas de los pastos Cayman y Cobra, en los distintos tratamientos, se les determinó la composición química. A las muestras con sus respectivas repeticiones se les determinó el contenido de proteína cruda (PC) por el método de Kjeldahl (AOAC, 1997); fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) de acuerdo con la metodología reportada por Van Soest *et al*., (1991). El análisis químico proximal de las muestras se realizó en el laboratorio de Nutrición de Rumiantes del Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, México.

Fermentación ruminal *in vitro*

Preparación de los medios de cultivo

Para determinar la degradabilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), pH, concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), producción de CH_4 y CO_2, y población de microorganismos ruminales se utilizó el medio de cultivo para microorganismos ruminales que contenía glucosa, celobiosa, almidón y fluido ruminal fresco (GCA-FR), el cual se elaboró según los métodos descritos por Cobos-Peralta y Yokoyama (1995). La fuente de inóculo utilizado fue fluido ruminal fresco extraído de un bovino adulto cruza de Cebú × Pardo Suizo de 500 kg, provisto con cánula ruminal, 2 h después de ser alimentado con 90% de forraje y 10% de alimento concentrado. (El manejo del bovino se realizó con base y con total apego al reglamento del uso de animales con fines de investigación de la Universidad del Mar, con fundamento en la NOM-024-ZOO-1995).

Degradabilidad *in vitro* de la Materia Seca (DIVMS)

Para determinar la DIVMS se pesó 0.5 g de MS de muestra de cada tratamiento y fueron agregadas por sextuplicado en viales serológicos de 120 mL. A cada vial se le agregó 45 mL de medio de cultivo estéril para bacterias totales (Cobos-Peralta y Yokoyama, 1995). Los viales fueron inoculados en condiciones anaerobias con flujo constante de CO_2, a cada vial se le agregaron 5 mL de fluido ruminal fresco. Cada vial se consideró un biofermentador y una unidad experimental. La DIVMS se determinó después de 72 h de incubación mediante filtrado del contenido del biofermentador en papel Whatman® 541 para recuperar la materia seca no degradada, por diferencia de peso se calculó la degradabilidad de acuerdo con las técnicas reportadas por Mellenberger *et al*. (1970).

Determinación de pH

A las 0 y 72 h de incubación se determinó el pH del medio en los biofermentadores con un potenciómetro portátil (Orion®, U.S.A.), calibrado a pH 4 y 7.

Ácidos Grasos Volátiles (AGV)

Después de 72 h de incubación las muestras de los biodigestores fueron depositadas en viales Eppendorf® (U.S.A) de 2 mL, con ácido meta-fosfórico (Merck®, U.S.A.) al 25% con una proporción 4:1, y se congelaron a -4 °C. Posteriormente se midió la concentración molar de los AGV de acuerdo con las técnicas reportadas por Erwin *et al*. (1961), utilizando un cromatógrafo de gases (Perkin Elmer®, U.S.A.) con un detector de ionización con flama. Las condiciones de trabajo fueron: temperatura de horno 130 °C, y del inyector y la columna capilar (15 × 0.32 m) 250 °C. Los tiempos de retención fueron 1.26 min para acetato, 1.6 min propionato y 2.09 min butirato. Los análisis fueron realizados en los Laboratorios de Microbiología Ruminal y Genética Microbiana del Colegio de Postgraduados, México.

Estimación de las emisiones de biogás (CH_4 y CO_2)

La producción de biogás se estimó mediante la técnica reportada por Krabill *et al*. (1969), cuya modificación fue reportada por Cobos-Peralta *et al*. (2018). Los biofermentadores se colocaron en un baño María a 39 °C, se conectaron con las trampas de captura de biogás por medio de una manguera Tygon® con un diámetro interior de 3/32". A la manguera se le colocaron dos agujas marca Terumo® de calibre 20 GX1" una en cada extremo. Un extremo se colocó en el biofermentador y el otro a la trampa de captura de biogás, a la cual se le colocó una aguja como válvula de liberación. La trampa fue colocada en forma invertida en una probeta de plástico. El volumen de biogás se cuantificó a 6, 12, 24, 48 y 72 h de incubación. Para medir las proporciones de CH_4 y CO_2 se tomó una muestra de 500 µL del biogás de las trampas y fue inyectado en un cromatógrafo de gases (Perkin Elmer®, U.S.A.) provisto con un indicador de conductividad térmica y una columna empacada Poropack. Las condiciones de detección fueron las siguientes: temperaturas de horno 80 °C, columna empacada 170 °C y detector de conductividad térmica 130 °C; los tiempos de retención fueron 0.71 min y 1.005 min para CH_4 y CO_2, respectivamente. El gas trasportador fue helio con una circulación de 23 mL

minuto^{-1}. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Microbiología Ruminal y Genética Microbiana del Colegio de Postgraduados, México.

Microorganismos ruminales

La población de bacterias ruminales se determinó en muestras obtenidas de los biofermentadores a las 6, 12, 24, 48 y 72 h de incubación, realizando conteo directo en una cámara Petroff Houser® (U.S.A.) con ayuda de un microscopio óptico Motic® (México), a 1000 magnificaciones. El procedimiento se realizó según lo reportado por Cobos-Peralta *et al.* (2011). La población de bacterias celulolíticas se determinó a 72 h de incubación mediante la técnica del número más probable (NMP) descrita por Harrigan y McCance (1979). Se inoculó medio proveniente de los biofermentadores en tubos de ensayo de 13 × 100 mm que contenían medio de cultivo líquido para bacterias celulolíticas preparado de acuerdo con las técnicas de Hungate (1969) y Cobos *et al.* (2011). El crecimiento bacterino se confirmó por la degradación del papel Whatman 541 después de 10 d de incubación de los medios a 39.0 °C. La población de protozoarios fue calculada a 6, 12, 24, 48 y 72 h por conteo directo (Cobos *et al*., 2011) mediante una cámara Neubauer-improved (Marienfeld, U.S.A.) en un microscopio óptico (Motic®, México), a 400 magnificaciones.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar, con 10 tratamientos y seis repeticiones por tratamiento. Para todas las variables evaluadas, el análisis de varianza se realizó con el paquete estadístico SAS (SAS 9.0) y la comparación de medias a través del estadístico de prueba de Tukey (Steel y Torrie, 1988), $\alpha = 0.05$. Para cumplir con la normalidad y homogeneidad de varianzas, los datos de población de protozoarios y bacterias celulolíticas se transformaron con la función Log 6 y bacterias totales a Log 10 previo al análisis estadístico (Cobos *et al*., 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química de los pastos Cayman y Cobra

La Tabla 1 muestra el efecto de la salinidad en el contenido de ceniza, extracto etéreo, proteína cruda, fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA). La salinidad inducida por NaCl afectó de forma diferencial el contenido de ceniza en los pastos Cayman y Cobra. En pasto Cayman, se determinó mayor contenido de ceniza ($P < 0.05$) en las plantas crecidas a CE ≥ 4 dS m^{-1}, en comparación a las plantas crecidas a CE de 0 y 2 dS m^{-1}. Lo anterior se puede explicar debido a la elevada concentración de sales presentes en el sustrato a CE ≥ 4 dS m^{-1}, probablemente indujo la absorción excesiva y acumulación de iones Na^+ y Cl^- en los tejidos del pasto Cayman (Villa-Castorena *et al*., 2006). Por lo que la retención de Na^+ y Cl^- aumentó en el pasto Cayman en la medida que incrementaron los niveles salinos, en consecuencia, el incremento de la concentración de estos iones en los tejidos se expresó en mayor contenido de cenizas (Casierra-Posada *et al.,* 2000). En general los pastos pueden crecer en condiciones de salinidad, sin embargo, algunos no toleran la acumulación de Na^+ y Cl^- en sus tejidos. Los pastos que tienen la capacidad de tolerar alto contenido de estos iones tóxicos se caracterizan por tener alto contenido de cenizas que pueden alcanzar concentraciones de 12.0 hasta 40.0% (El Shaer, 2010). En el presente estudio se evidenció esta situación debido a que el pasto Cayman tendió a acumular mayor contenido de Na^+ en sus tejidos en relación con el pasto Cobra, lo que se vio reflejado en mayor porcentaje de cenizas. Ferreira *et al*., (2015) determinaron en *Medicago sativa* que los iones Na^+ y Cl^- incrementaron de 40 a 60% en los tejidos. El Na^+ es tóxico para distintos procesos metabólicos, incluso para las enzimas que participan en la fotosíntesis, por lo tanto, algunas leguminosas como *Medicago sativa* tienen la capacidad para transportar, almacenar y movilizar los iones tóxicos como Na^+ y Cl^-, lo cual le confiere a este tipo de plantas tolerancia a la salinidad (Munns 2005; Barkla *et al.*, 2007). En el pasto Cobra, se obtuvieron menores porcentajes de ceniza ($P>0.05$) en las plantas crecidas a altos niveles de CE, lo que posiblemente se debió a los mecanismos realizados para transportar, excluir y movilizar los iones tóxicos de Na^+ y Cl^- de sus tejidos. Resultados similares fueron obtenidos por Al-Dakheel *et al.* (2015) quienes evaluaron genotipos de *Cenchrus ciliaris* L. bajo tres niveles de salinidad de agua de riego y registraron porcentaje de ceniza de 12.86, 12.64 y 12.47 para CE de 5, 10 y 15 dS m^{-1} respectivamente, determinando que el porcentaje de ceniza disminuyó ligeramente debido a los mecanismos de transporte y exclusión de Na^+ y Cl^- realizados por los tejidos de este pasto, lo que le confirió tolerancia a la sequía y salinidad.

El pasto Cayman crecido a CE de 6 dS m^{-1} tuvo mayor porcentaje de extracto etéreo ($P<0.05$; Tabla 1), con respecto a los otros tratamientos, lo anterior se debió a que en concentraciones de salinidad mayores a 8 dS m^{-1}, el contenido de extracto etéreo disminuyó debido a que las plantas bajo estrés salino producen una mayor producción de la enzima fosfodiesterasa que degrada lípidos (Kaplan *et al.*, 2017). En el pasto Cobra no hubo diferencia ($P>0.05$) entre los niveles de salinidad evaluados, lo cual pudo deberse a la producción de enzimas como ascorbato peroxidasa (APX), glutatión reductasa (GR) y super oxido dismutasa (SOD) que algunas plantas utilizan como mecanismo para combatir el estrés oxidativo y de esta manera evitaron la degradación de lípidos (Lams y González, 2013). El

porcentaje de extracto etéreo de los dos pastos evaluados se encuentran dentro de un rango de 1.49 a 1.84%, considerado adecuado para pastos tropicales. El efecto de la salinidad sobre el extracto etéreo de los pastos fue reportado por Boga *et al.* (2014), quienes evaluaron las especies forrajeras *Lotus corniculatus, Trifolium alexandrinum* y *Medicago sativa* a cuatro niveles de salinidad: No salina con CE menor a 4 dS m^{-1}, salinidad baja de 4 a 8 dS m^{-1}, salinidad media de 8 a16 dS m^{-1} y salinidad alta mayor a 16 dS m^{-1}. Reportaron que no hubo diferencias en el porcentaje del extracto etéreo entre los niveles de salinidad de los forrajes evaluados, debido a que este tipo de plantas utilizan el método de exclusión de Na^+ para hacer frente al estrés salino. Resultados similares se obtuvieron en el presente estudio en el pasto Cobra, el cual posiblemente es ligeramente más tolerante a la salinidad porque es capaz de regular la absorción y translocación de Na^+ y Cl^- para evitar la acumulación excesiva de estos iones (Boga *et al*., 2014). En contraste, Petropoulos *et al.* (2017), observaron menor contenido de extracto etéreo en *Cichorium spinosum* L. (0.22 *vs* 0.28%) cuando se evaluaron niveles altos de salinidad (CE > 6 *vs* 0 dS m^{-1}).

En el presente estudio la salinidad tuvo efecto en la disminución ($P<0.05$) de la proteína cruda en los pastos evaluados (Tabla 1). A una CE de 10 dS m^{-1} el pasto Cayman registró una reducción de proteína cruda de 8.42% con respecto al testigo, mientras que en el pasto Cobra, la reducción de proteína fue de 18.0%. La disminución de la proteína puede ser explicado porque en condiciones de estrés salino los forrajes absorben menor concentración de nitrato (NO_3) por la raíz (Müller-Queiroz *et al*., 2012). Una menor absorción de nitrógeno por la planta ocasiona menor síntesis de aminoácidos y proteínas. Además, en condiciones salinas ocurre proteólisis y desnaturalización de enzimas involucradas en la síntesis de aminoácidos (Kumar *et al*., 2010). Elfeel y Bakhashwain, (2012) reportaron la disminución en el contenido de proteína cruda de 14.9 a 13.1% en *Acacia saligna (Labill.)* H. Wendl, al someter a las plantas a CE de 0 dS m^{-1} a 7 dS m^{-1}. De forma similar Kumar *et al*. (2010) observaron en las hojas de *Avena sativa* L., disminución de 10 y 26 % al incrementar la CE de 10 y 14 dS m^{-1}, respecto al testigo. Por otra parte, Kosová *et al*., (2013), enfatizan que la disminución de proteína cruda en plantas que crecen en altas concentraciones de salinidad se debe a una alteración en la transcripción y biosíntesis de proteínas, debido a que se altera la síntesis de ácido nucleicos, son afectadas las enzimas remodeladoras del ADN que alteran la expresión génica. En contraste, Uzun *et al.* (2013), reportan incrementos en el porcentaje de proteína en V*icia ervilia* L cultivadas en condiciones salinas. De igual manera, Kaplan *et al.* (2017) registraron en *Festuca arundinacea Schreb* incrementos de 5.56 a 6.99 % de proteína en concentraciones de CE de 0 a 8 dS m^{-1}. El mayor contenido de proteína cruda en condiciones de baja y moderada salinidad se debe a que las sales a estas concentraciones estimulan y sintetizan proteínas específicas bajo condiciones de estrés (Müller-Queiroz *et al.*, 2012). Además, en algunas plantas se presenta un incremento de la relación hojas/tallo bajo condiciones de estrés salino, los tallos contienen estructuras con bajos contenidos de N, mientras que las hojas son ricas en este elemento, y al aumentar esta relación, incrementa el contenido proteico (Ferreira *et al*., 2015). Sin embargo, al exceder el umbral de tolerancia a las sales, las plantas se vuelven susceptibles y disminuye el porcentaje de proteína. Las variedades tolerantes muestran reducciones de proteína a mayores niveles de salinidad mientras que las variedades sensibles muestran reducciones a más bajas concentraciones de sal (Robinson *et al.*, 2004; Worku-Daba *et al.*, 2019). Al-Dakheel *et al.*, (2015) en genotipos de *Cenchrus ciliaris* L., obtuvieron porcentajes de proteína de 5.76, 6.77 y 5.94 % para CE de 5, 10 y 15 dS m^{-1} respectivamente, obteniendo un aumento de proteína con CE de 10 dS m^{-1}. Resultados similares fueron obtenidos en el presente experimento donde el contenido de proteína del pasto Cayman fue superior al testigo cuando la CE fue de 4 dS m^{-1}; sin embargo, a CE mayor hubo disminución de la proteína cruda, lo anterior indica que este pasto durante su crecimiento es moderadamente tolerante a la salinidad, pero al aumentar paulatinamente las concentraciones de salinidad se ve afectada la síntesis de proteína en la planta (Kosová *et al*., 2013).

Los contenidos de FDN y FDA fueron diferentes ($P<0.05$) entre tratamientos en Cayman y Cobra (Tabla 1). En el pasto Cayman se registró el porcentaje más alto ($P<0.05$) de FDN en el tratamiento testigo y menor porcentaje de FDA en relación con el pasto Cobra; en este sentido Ferreira *et al*., (2015), han determinado que en forrajes crecidos en bajos niveles de salinidad no se afectan las fracciones de FDN y FDA, sin embargo, en condiciones de salinidad mayores a 12.0 dS m^{-1} las fracciones de FDN y FDA disminuyen entre 8.0 y 9.0%. En pasto Cayman se registraron valores de FDN entre 67.69 y 71.55 % y FDA de 36.90 a 44.53 %. Por otra parte, en el pasto Cobra los valores de FDN fueron de 66.56 a 69.16 % y FDA de 39.58 a 61.56 %. Muñoz-González *et al.*, (2016), reportaron datos similares de FDN e inferiores en FDA a los del presente estudio al analizar los pastos *Brachiaria brizantha* y *Brachiaria humidícola* cultivados en condiciones de baja salinidad, lo anterior se puede atribuir a que cuando los forrajes son crecidos en bajas concentraciones de salinidad no se aumentan las fracciones de FDN y FDA, debido a que no se afecta la osmosis de la célula vegetal y por tanto no requiere aumentar el grosor de la pared celular (Kaplan *et al*., 2017). En contraste, Ben-Ghedalia *et al.* (2001) reportaron en *Lolium multiflorum* cultivado en condiciones de alta salinidad (9.78 dS m^{-1}), donde registró

Tabla 1. Efecto de la concentración de sal (NaCl) en el suelo sobre la composición química de los pastos Cayman (BR/1752) y Cobra (BR/1794), 60 días después de la emergencia (DDE).

Pasto	CE (dS m^{-1})	C[1] %	EE[2] %	PC[3] %	FDN[4] %	FDA[5] %
	0	11.72^{c*}	1.52^{b*}	17.34^{ab}	71.55^{a}	44.53^{a}
	2	14.75^{b*}	1.56^{b*}	17.33^{ab}	68.13^{b*}	37.81^{c*}
Cayman	4	15.54^{a}	1.56^{b*}	18.21^{a}	68.74^{b*}	41.73^{b*}
	6	15.90^{a}	1.84^{a}	16.50^{bc*}	67.69^{b*}	36.90^{c*}
	10	15.72^{a}	1.60^{b*}	15.88^{c*}	69.23^{b*}	40.30^{b*}
EEM		0.13	0.02	0.27	0.35	0.50
	0	13.40^{a}	1.49^{a}	18.68^{a}	67.75^{b*}	40.75^{c*}
	2	13.12^{ab}	1.75^{a}	16.58^{c*}	67.68^{b*}	50.70^{b*}
Cobra	4	12.60^{cd*}	1.79^{a}	16.78^{bc*}	69.16^{a}	49.29^{b*}
	6	12.92^{bc*}	1.72^{a}	17.39^{b*}	66.56^{c*}	61.56^{a}
	10	12.34^{d*}	1.74^{a}	15.32^{d*}	67.81^{b*}	39.58^{c}
EEM		0.07	0.07	0.15	0.23	0.42

EEM: Error estándar de la media.
[1]Ceniza, [2]Extracto etéreo, [3]Proteína cruda, [4]Fibra insoluble en detergente neutro y [5]Fibra insoluble en detergente ácido;
[a, b, c, d.]Medias con la misma literal en la misma columna indican diferencias; *: significancia estadística (Tukey $\alpha = 0.05$).

una disminución de 6.17% en el porcentaje de FDN, en comparación con el grupo testigo cultivado a bajas concentraciones de sal (CE de 1.44 dS m^{-1}). En *Medicago sativa*, los contenidos de FDN y FDA disminuyeron en 9 y 8%, respectivamente, al aumentar los niveles de salinidad de 12.7 a 18.4 dS m^{-1} (Uzun *et al.*, 2013; Ferreira *et al*., 2015). Ben-Ghedalia *et al*. (2001), enfatizan que, ante el estrés salino, el contenido de carbohidratos solubles de los forrajes tiende a incrementar, mientras que el contenido de FDN tiende a disminuir. Se considera que las altas concentraciones de sal inhiben la fotosíntesis, lo que resulta en menor deposición secundaria de la pared celular al disminuir la síntesis de FDN (Glover *et al.*, 2004). En otra investigación se considera que los cambios que ocurren en la pared celular de las plantas varían según el mecanismo que utilicen para tolerar el estrés salino (Munns, 2005). Numerosas plantas halófitas y tolerantes a la sal contienen altas concentraciones de paredes celulares, lo que reduce su degradabilidad. En contraste, Elfeel y Bakhashwain (2012) reportaron un incremento de 9.27% de FDN al aumentar la salinidad hasta 12 dS m^{-1} en *Acacia saligna (Labill.)* H. Wendl.

Degradabilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y pH a 72 horas de incubación

La DIVMS y el pH no presentaron diferencias ($P < 0.05$) entre los pastos y los niveles salinos evaluados (Tabla 2). En pasto Cayman, la DIVMS registró en promedio 63.57% y en pasto Cobra 64.61%. Los resultados obtenidos en el presente estudio pueden ser explicador por Masters *et al*., (2006), quienes enfatizan que a bajos niveles de salinidad (1.4 a 9.8 dS m-1) no se afecta la DIVMS. Ortega-Aguirre *et al.* (2015) reportaron resultados similares en *Brachiaria brizantha* cv Mulato que registró 69.26% de DIVMS y en *Brachiaria brizantha* cv Toledo, donde obtuvieron 64.19% de DIVMS, a una salinidad de 12.0 dS m^{-1}. De acuerdo con Glover *et al.* (2004), la baja salinidad incrementa la materia orgánica y degradabilidad de los forrajes. Por su parte, Ben-Ghedalia *et al.* (2001), reportan aumento en la DIVMS de 73.5 a 78.1% en *Lolium multiflorum* L., al increnmentar la salinidad de CE de 1.44 a 9.78 dS m^{-1}. En contraste, Worku-Daba *et al*, (2019) en *Chloris gayana*, registraron una disminución en los porcentajes de DIVMS a medida que aumentaban los niveles de salinidad. Por otra parte, la FDN es uno de los aspectos de mayor importancia relacionados con degradabilidad de la materia seca, de tal manera que los cambios causados por la salinidad en la pared celular de tienen efecto sobre la degradabilidad del forraje. Al tomar en cuenta que la fracción de FDN incluye la celulosa, la hemicelulosa y lignina, lo cual constituye la pared celular de las plantas, esta fracción está estrechamente relaciona con la degradabilidad ruminal del forraje. A mayor concentración de FDN la degradabilidad ruminal disminuye, por lo que hay menor disponibilidad de nutrientes para los microorganismos ruminales y, por lo tanto, menor aporte de proteína y energía para los rumiantes (Segura *et al.* 2007). Además, la fermentación ruminal de forrajes con mayor contenido de pared celular origina una mayor producción de ácido acético, lo que produce un aumento de las emisiones de metano por la mayor disponibilidad de H^+ (Ley de Coss *et al.*, 2018). En el presente estudio la variación obtenida en los porcentajes de FDN y FDA en los niveles de salinidad evaluados probablemente no fue suficiente para afectar la DIVMS de los pastos Cayman y Cobra, o bien estos pastos poseen mecanismos especializados como grandes vacuolas para secuestrar los iones de Na^+ y Cl^-.

Los medios de cultivo donde se fermentó el pasto Cayman presentaron en promedio un pH de 6.27 y el del pasto Cobra de 6.31. Estos valores se encuentran dentro del intervalo fisiológico de pH del contenido ruminal (6.2 – 6.8) en rumiantes que consumen una dieta a base de forrajes, a estos niveles existe un adecuado crecimiento de los microorganismos del rumen y, por tanto, la degradación y fermentación de la materia orgánica es más activa (Attia-Ismail, 2015). Los valores de pH por debajo de 5.8 se asocian con aumento de la osmolaridad del contenido ruminal, lo que provoca reducción en la población de bacterias celulolíticas y protozoarios, además se inhibe el consumo voluntario y las condiciones del rumen son menos estables (Krause y Oetzel, 2006; Araujo-Febres y Vergara-López, 2007).

Concentración de ácido grasos volátiles (AGVs)

Los niveles de salinidad de los pastos Cayman y Cobra tuvieron efecto en la concentración de acetato y por consiguiente en la concentración total de AGVs ($P<0.05$; Tabla 3). A una CE de 4 dS m^{-1} (2560 mg L^{-1}) se registró menor concentración de acetato en ambos pastos. En tanto que, no se presentaron diferencias ($P > 0.05$) en la concentración de propionato, butirato y la relación acetato: propionato en los distintos tratamientos. La mayor concentración de acetato se registró en el pasto Cayman, cuyos valores oscilaron entre 18.45 a 22.58 mmol L^{-1}, en tanto que, el pasto Cobra registró valores entre 16.21 y 19.52 mmol L^{-1}. Para el total de los AGVs, las mayores concentraciones se registraron en el pasto Cayman con valores entre 35.06 y 40.04 mmol L^{-1}, y para el pasto Cobra fueron de 31.23 a 39.31 mmol L^{-1}. Lo anterior, podría explicarse por el mayor contenido de FDN del pasto Cayman, lo que aporta mayor cantidad de celulosa y hemicelulosa potencialmente fermentables por las bacterias celulolíticas como *Ruminococcus flavefaciens, Ruminococcus albus* y *Fibrobacter succinogenes*, que degradan la glucosa hasta acetato y butirato (Ley de Coss *et al.*, 2018). Solo en tres decenas de estudios se ha investigado el efecto de la salinidad de la dieta sobre parámetros del rumen, y los resultados obtenidos han concluido que niveles mayores de 7000 mg L^{-1} de cloruro de sodio en el alimento o el agua de bebida pueden ser tóxicos porque disminuyen la producción total de AGVs (Attia-Ismail 2015; Nack *et al*., 2021). Por su parte, Preeti *et al.* (2018), determinaron que diferentes niveles de salinidad agua de bebida (4000, 6000 y 8000 mg L^{-1}) suministrada a

Tabla 2. Degradabilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y pH a 72 horas de incubación de los pastos Cayman y Cobra, 60 días después de la emergencia y cultivados a diferentes concentraciones de salinidad.

Pasto	CE (dS m^{-1})	DIVMS[1] (%)	pH[2]
Cayman	0	64.52[a]	6.26[a]
	2	62.76[a]	6.27[a]
	4	62.42[a]	6.29[a]
	6	65.52[a]	6.30[a]
	10	62.62[a]	6.21[a]
EEM		1.89	0.02
Cobra	0	64.85[a]	6.32[a]
	2	66.37[a]	6.29[a]
	4	63.65[a]	6.36[a]
	6	65.63[a]	6.28[a]
	10	62.56[a]	6.32[a]
EEM		2.12	0.05

EEM: Error estándar de la media.
[1]Degradabilidad *in vitro* de la materia seca, [2]pH
[a] Medias con la misma literal en la misma columna no son diferentes (Tukey α=0.05).

Tabla 3. Concentración de AGV a 72 horas de incubación *in vitro* de los pastos Cayman y Cobra, 60 días después de la emergencia y cultivados a diferentes concentraciones de salinidad.

Pasto	CE (dS m^{-1})	Acetato[1] (mmol L^{-1})	Propionato[2] (mmol L^{-1})	Butirato[3] (mmol L^{-1})	Total AGVs[4] (mmol L^{-1})	Acetato:Propionato[5]
Cayman	0	18.88[ab]	11.20[a]	4.99[a]	35.06[b*]	1.69[a]
	2	22.58[a]	13.97[a]	6.46[a]	43.01[a]	1.64[a]
	4	18.45[b*]	12.42[a]	5.74[a]	36.60[ab]	1.50[a]
	6	20.88[ab]	14.38[a]	5.78[a]	41.04[ab]	1.45[a]
	10	19.07[ab]	13.81[a]	5.31[a]	38.18[ab]	1.38[a]
EEM		0.82	0.80	0.60	1.53	0.08
Cobra	0	17.22[ab]	11.67[a]	4.99[a]	33.88[ab]	1.49[a]
	2	18.96[ab]	12.83[a]	5.36[a]	37.15[ab]	1.49[a]
	4	16.21[b*]	10.40[a]	4.62[a]	31.23[b*]	1.58[a]
	6	19.45[a]	13.91[a]	5.95[a]	39.31[a]	1.40[a]
	10	19.52[a]	12.72[a]	5.47[a]	37.70[ab]	1.56[a]
EEM		0.69	0.82	0.69	1.41	0.12

EEM: Error estándar de la media.
[a,b] Medias con la misma literal en la misma columna no son diferentes; *: significancia estadística (Tukey α = 0.05).

los becerros no encontraron efecto alguno en la concentración total de los AGVs. En el presente experimento, los tratamientos en ambos pastos Cobra y Cayman contenían niveles de salinidad de 0, 1280, 2560, 3480 y 6400 mg L^{-1} en los distintos tratamientos, donde se estimó la relación acetato:propionato de 1.38 a 1.69 en los pastos Cayman y Cobra, lo cual sugiere una adecuada eficiencia en la utilización de energía durante la fermentación ruminal *in vitro*, como se demostrado que la relación adecuada acetato:propionato en rumen esta entre 0.9 a 4.0, y la utilización de la energía es más eficiente si la relación es cercana a 1.0 (Ley de Coss *et al.*, 2018).

Estimación de las emisiones de biogás (CH_4 y CO_2).

La salinidad inducida por NaCl a CE ≤ de 10 dS m^{-1} no afectó (P > 0.05) las variables producción de biogás total, concentración de CH_4 y CO_2, en los pastos Cayman y Cobra. La producción porcentual creciente de biogás total (Tabla 4) en ambos pastos fue de 30, 50, 70, y 90 a las 6, 12, 24 y 48 h, respectivamente. Los resultados obtenidos indicaron que, del total de biogás producido, el 89% corresponde a CO_2 y 11% a CH_4. Aunque, el efecto de la salinidad en el rendimiento de las plantas ha sido estudiado ampliamente, se tiene poca información del efecto del estrés salino en la producción de biogás y la degradabilidad de la materia seca (Boga *et al.*, 2014). La producción de biogás en rumen incrementa o disminuye de acuerdo con la composición química de los alimentos, se ha determinado que los alimentos con mayor contenido de carbohidratos estructurales y menor contenido de proteína cruda producen mayor cantidad de biogás (CO_2 y CH_4), en contraste los alimentos con mayor contenido de carbohidratos solubles y mayor contenido de proteína cruda producen menor cantidad de biogás (Camacho-Escobar *et al.*, 2020). En la presente investigación, los pastos Cayman y Cobra no presentaron diferencias (P < 0.05) en la producción de biogás, debido a que se registraron en los tratamientos valores que van desde 162 a 207 mL g^{-1} de MS a las 72 horas de incubación. No hubo cambios de producción de biogás posiblemente por la similitud en el contenido de proteína cruda, extracto etéreo, valores de pH y la relación acetato:propionato de los dos pastos evaluados. Por su parte, Kara *et al.* (2016), reportan mayor producción de biogás y CH_4 en *Medicago sativa*, *Atriplex patula* y *Plantago lanceolata* crecidos en condiciones de estrés salino, los cuales tuvieron una producción de biogás de 275.8 a 286.8 mL 1.0 g^{-1} de MS a las 72 h de incubación. Además, reportaron mayor producción de CH_4, el cual fue de 96.15 mL por 1.0 g^{-1} de MS para *Medicago sativa*; 110.3 mL por 1.0 g^{-1} de MS para *Atriplex patula* y 83.4 mL por 1.0 g^{-1} de MS para *Plantago lanceolata* a las 24 horas de incubación. Los resultados anteriores contrastan con los obtenidos en el presente estudio donde la salinidad no afectó la producción de biogás total, ni la producción de CH_4 y CO_2. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Robinson *et al.* (2004) en 10 especies de forrajes sometidos a CE de 15.0 y 25.0 dS m^{-1}. Por otro lado, Kaplan *et al.* (2017) reportaron aumento en la producción de biogás total (34.17 a 45 mL) y metano (4.35 a 6.85 mL) al incrementar la CE de 0 a 8 dS m^{-1}.

Población de bacterias

La población de bacterias totales en medios de cultivo con diferentes niveles salinos presentó diferencia (P < 0.05), durante las primeras 12 h para el pasto Cayman y durante las primeras 6 h para el pasto Cobra (Tabla 5). Los resultados obtenidos a las 24, 48 y 72 h indican, que la salinidad no influyó significativamente sobre la

Tabla 4. Producción de CH_4 y CO_2 (mL g^{-1} de materia seca) *in vitro* de los pastos Cayman y Cobra, 60 días después de la emergencia y cultivados a diferentes concentraciones de salinidad.

Pasto	CE (dS m-1)	Desplazamiento (mL) acumulado de biogás total					CH_4	CO_2
		6 h[1]	12 h[2]	24 h[3]	48 h[4]	72 h[5]	72 h[6]	72 h[7]
Cayman	0	44.53[a]	77.40[a]	123.80[a]	159.20[a]	170.47[a]	18.46[a]	152.39[a]
	2	62.73[a]	104.60[a]	152.27[a]	180.60[a]	192.87[a]	20.2[a]	172.64[a]
	4	72.67[a]	112.60[a]	158.87[a]	194.47[a]	207.33[a]	20.39[a]	186.97[a]
	6	45.87[a]	81.73[a]	126.13[a]	157.20[a]	167.93[a]	16.15[a]	151.69[a]
	10	45.10[a]	81.00[a]	134.20[a]	169.40[a]	188.80[a]	20.02[a]	168.52[a]
EEM		7.54	7.60	8.46	8.30	9.82	1.71	8.97
Cobra	0	42.00[a]	79.13[a]	117.53[a]	152.67[a]	164.27[a]	15.64[a]	148.62[a]
	2	64.67[a]	101.27[a]	148.40[a]	185.40[a]	197.33[a]	17.92[a]	179.33[a]
	4	44.20[a]	82.13[a]	111.67[a]	149.40[a]	162.33[a]	16.94[a]	145.73[a]
	6	64.40[a]	94.60[a]	135.80[a]	172.10[a]	186.00[a]	17.40[a]	168.65[a]
	10	53.47[a]	89.40[a]	130.27[a]	160.00[a]	172.67[a]	18.10[a]	154.83[a]
EEM		9.33	10.26	11.23	11.04	11.02	1.92	10.24

EEM: Error estándar de la media.

[a] Medias con la misma literal en la misma columna no son diferentes (Tukey α=0.05).

Tabla 5. Población de bacterias ruminales a diferentes tiempos de incubación *in vitro* usando como sustrato pastos Cayman y Cobra, 60 días después de la emergencia y cultivados a diferentes concentraciones de salinidad.

Pasto	CE (dS m^{-1})	Bacterias totales (10^{10} mL^{-1}).					Bacterias celulolíticas (10^6 mL^{-1}).
		6 h [1]	12 h[2]	24 h[3]	48 h[4]	72 h[5]	72 h[6]
Cayman	0	10.04[b*]	10.50[a]	10.36[a]	10.35[a]	10.20[a]	11.28[a]
	2	10.05[b*]	10.36[ab]	10.36[a]	10.43[a]	10.31[a]	10.00[a]
	4	10.17[ab]	10.16[c*]	10.43[a]	10.29[a]	10.24[a]	9.64[a]
	6	10.24[a]	10.29[bc*]	10.40[a]	10.40[a]	10.32[a]	11.05[a]
	10	10.29[a]	10.30[bc*]	10.31[a]	10.34[a]	10.27[a]	11.05[a]
EEM		0.04 x 10^{10}	0.03 x 10^{10}	0.05 x 10^{10}	0.05 x 10^{10}	0.04 x 10^{10}	0.50 x 10^6
Cobra	0	10.60[a]	10.52[a]	10.51[a]	10.37[a]	10.37[a]	9.44[a]
	2	10.13[b*]	10.27[a]	10.36[a]	10.38[a]	10.37[a]	8.61[a]
	4	10.27[ab]	10.42[a]	10.32[a]	10.22[a]	10.20[a]	8.48[a]
	6	10.23[ab]	10.36[a]	10.37[a]	10.22[a]	10.20[a]	8.87[a]
	10	10.06[b*]	10.38[a]	10.31[a]	10.39[a]	10.20[a]	9.22[a]
EEM		0.09 x 10^{10}	0.08 x 10^{10}	0.06 x 10^{10}	0.04 x 10^{10}	0.06 x 10^{10}	0.50 x 10^6

EEM: Error estándar de la media.

[a, b] Medias con distinta literal en la misma columna son estadísticamente diferentes; *: significancia estadística (Tukey α=0.05).

población de bacterias totales en ambos pastos, las cuales registraron una población entre 10.31 a 10.51 x 10^{10} mL^{-1} a las 24 h; de 10.22 a 10.43 x 10^{10} mL^{-1} a las 48 h y de10.20 a 10.37 x 10^{10} mL^{-1} a las 72 h. Los resultados obtenidos en el presente estudio son superiores a los obtenidos por Kara *et al.* (2016) a las 24 h de incubación, quienes reportaron una población de bacterias totales de 2.52 x 10^8 mL para *Medicago sativa*, 2.96 x 10^8 mL para *Atriplex patula* y 2.45 x 10^8 mL para *Plantago lanceolata* crecidas en suelo salino. La población de bacterias celulolíticas no fue afectada por la salinidad en los pastos evaluados. Sin embargo, se registró diferencia (P<0.05) en la población de bacterias celulolíticas entre pastos, donde hubo mayor población de bacterias celulolíticas en pasto Cayman, con un intervalo de 9.64 a 11.28 x 10^6 mL^{-1}. La mayor población de bacterias celulolíticas en el pasto Cayman probablemente fue debido al mayor porcentaje de FDN que se determinó en este pasto. Attia-Ismail (2015) menciona que cuando los animales son alimentados con plantas crecidas en suelos que contienen más de 8000 mg L^{-1} de sales o cuando consumen agua con más de 7000 mg L^{-1} de NaCl, se presentan cambios importantes en la fermentación ruminal. Las altas concentraciones de sales en el líquido ruminal provocan la salida de agua de las células microbianas, con pérdida de turgencia y presión osmótica, lo cual provoca disminución de 25 a 50% en el crecimiento de la población de las bacterias del rumen (Costa *et al*., 2019). Ante el aumento de la osmolaridad del medio ruminal (mayor a 400 mOmol Kg^{-1}) por la acumulación de NaCl, las bacterias ruminales tienden a responder con un flujo de potasio hacia el interior de la célula, lo que aumenta la acumulación de iones de K^+ en el citoplasma, además se da la síntesis de glutamato formándose glutamato de potasio para mantener la electroneutralidad del medio celular. El aumento de la osmolaridad también afecta el complejo de lipoproteínas, la composición de los ácidos grasos de la membrana y la producción de exopolisacáridos lo que altera el proceso de transporte de la membrana y como consecuencia afecta la tasa decrecimiento de las bacterias (Costa *et al*., 2019). Según Preeti *et al*. (2018) cantidades de 800 a 4000 mg L^{-1} de STD en agua de bebida para el ganado se reducen las poblaciones microbianas del rumen, lo anterior es explicado por Attia-Ismail (2015) y Costa *et al*., (2019), quienes enfatizan que el estrés salino, puede producir un súper enrollamiento del ADN bacteriano que puede provocar la separación de las cadenas, afectándose la transcripción y la síntesis de proteínas. Además, reportan que existe alteración de las proteínas de la membrana, estas pierden sus funciones, entre las que sobresalen los mecanismos de transporte, las funciones enzimáticas en los procesos de fosforilación no oxidativa, fuerza motriz de protones y sistemas de fosforilación a nivel sustrato para la producción de energía (ATP), lo que puede causar la inanición y muerte celular. Cuando los valores de salinidad suelen ser mayores de 7000 mg L^{-1} de STD pueden causar un aumento de la tasa de pasaje por aumento de la presión osmótica del líquido ruminal, al reducir la población de bacterias ruminales, sobre todo las celulolíticas, disminuyen la concentración de amoniaco, la producción total de AGV y la degradabilidad de la materia orgánica. Por otra parte, disminuye la producción de acetato debido a que las bacterias celulolíticas tienen una tasa de crecimiento más lenta y dependen del amoniaco y de ácidos grasos de cadena ramificada como el isovalerato, isobutirato y el 2-

metibutirato para la síntesis de proteínas (Costa *et al*., 2019). También se ha determinado que las bacterias celulolíticas utilizan la vía del acetato como la ruta principal de la reoxidación del $NADH^+$, que en un ambiente salino esta ruta esta alterada, por esta razón hay menor población de bacterias que se traduce en menor producción de AGV (Attia-Ismail, 2015). De acuerdo con estudios realizados por Rosa *et al*. (2019) se reporta que el consumo en el agua de bebida que contiene hasta 8326 mg L^{-1} de STD no producen alteraciones en el metabolismo ruminal. Se ha determinado que a estos niveles de salinidad no hay aumento de la presión osmótica (menor a 400 mOmol Kg^{-1}) del contenido ruminal, por tanto, las bacterias ruminales no se encuentran en estrés salino y pueden realizar de forma adecuada sus funciones metabólicas (Valtorta *et al.*, 2008). En nuestra investigación los mayores niveles de salinidad de los pastos Cayman y Cobra se presentaron a 6 y 10 dS m^{-1}, que correspondieron a 3800 y 6400 mg L^{-1} de NaCl, respectivamente, los cuales son menores a los reportados por Attia-Ismail (2015) como críticos para provocar estrés salino en las bacterias. Por lo tanto, los resultados obtenidos mostraron que no se presentó disminución de la población de bacterias en ambos tipos de pastos.

Población de protozoarios

La población de protozoarios ruminales no presentó diferencias (P >0.05) entre los niveles de salinidad y entre los pastos Cayman y Cobra (Tabla 6). En ambos pastos la mayor población de protozoarios se obtuvo a las 12 h, la menor población se obtuvo a 72 h. Lo anterior se debe a que antes de las 24 h de fermentación existió en el medio de cultivo una mayor cantidad de nutrientes, lo cual estimuló el desarrollo de los distintos microorganismos, incluyendo a los protozoarios, al avanzar el tiempo de fermentación (más de 48 h) se van agotando los nutrientes, además se van acumulando los productos finales de la fermentación como AGV e H_2, que causa la disminución del pH del medio ruminal por abajo de 6.4; lo cual tuvo efecto en la disminución de la población de protozoarios en el presente estudio (Cobos-Peralta *et al*., 2018). Investigaciones realizadas por Kara *et al*, (2016) en tres especies crecidas en suelo salino reportaron poblaciones de 4.29 x 10^5 mL^{-1} para *Medicago sativa*; 4.30 x 10^5 mL^{-1} para *Atriplex patula* y 4.26 x10^5 mL^{-1} para *Plantago lanceolata*. Por su parte, Valtorta *et al*. (2008) reportan que la salinidad del agua para consumo de vacas Holstein no afectó la población de protozoarios; sin embargo, reportaron poblaciones de 9.3, 13.8 y 12.9 x 10^3 mL^{-1}, considerados como valores bajos a concentraciones de salinidad de 1000, 5000 y 10 000 mg L^{-1} de STD, respectivamente. Los resultados de las investigaciones anteriores contrastan con los obtenidos en el presente estudio, los pastos Cobra y Cayman crecieron en las máximas condiciones de salinidad, sobre todo en los dos últimos tratamientos a 3840 y 6400 mg L-1, las cuales probablemente no fueron suficientes para afectar el crecimiento de las poblaciones de protozoarios. Lo anterior fue comprobado por Costa *et al*., (2019), quienes determinaron que la presencia de NaCl, en el líquido ruminal de hasta 8800 mg L^{-1} no afectaron el crecimiento de bacterias celulolíticas y protozoarios. En general, los datos obtenidos en la presente investigación sobre la sobrevivencia de la población de protozoarios ruminales (10^6 mL^{-1}), en los diferentes niveles de salinidad (0 - 10 dS m^{-1}), se debe a que los niveles de salinidad de los forrajes Cobra y Cayman del presente experimento no afectaron el crecimiento de la población de protozoarios, debido a

Tabla 6. Población de protozoarios a diferentes tiempos de incubación *in vitro* usando como sustrato pastos Cayman y Cobra, 60 días después de la emergencia y cultivados a diferentes concentraciones de salinidad.

Pasto	CE (dS m^{-1})	Protozoarios (10^6 mL^{-1}).				
		6 h[1]	12 h[2]	24 h[3]	48 h[4]	72 h[5]
Cayman	0	4.41[a]	6.68[a]	6.43[a]	6.63[a]	4.29[a]
	2	6.68[a]	7.25[a]	6.68[a]	4.29[a]	2.14[a]
	4	4.41[a]	7.19[a]	6.63[a]	4.29[a]	2.14[a]
	6	6.96[a]	6.89[a]	6.63[a]	2.14[a]	0.00[a]
	10	4.41[a]	6.56[a]	6.56[a]	4.41[a]	2.14[a]
EEM		1.71 x 10^6	0.15 x 10^6	0.15 x 10^6	1.93 x 10^6	1.92 x 10^6
Cobra	0	6.68[a]	6.93[a]	6.63[a]	6.56[a]	4.29[a]
	2	4.41[a]	4.54[a]	6.81[a]	6.56[a]	4.49[a]
	4	6.56[a]	6.68[a]	4.29[a]	4.29[a]	2.27[a]
	6	6.68[a]	7.32[a]	4.29[a]	6.56[a]	2.27[a]
	10	4.54[a]	6.89[a]	6.43[a]	4.29[a]	2.14[a]
EEM		1.42 x 10^6	1.02 x 10^6	1.36 x 10^6	1.36 x 10^6	2.22 x 10^6

EEM: Error estándar de la media.
[a]Medias con la misma literal en la misma columna no son diferentes (Tukey α=0.05).

que su población se encuentra óptima para una adecuada fermentación ruminal (McDonald *et al.* 2002; Rosa *et al.*, 2019).

Salamanca (2010) enfatiza que las principales causas por lo que no es afectada la microbiota ruminal, particularmente la de los protozoarios, es que los iones Na^+ y Cl^-, forman parte de los principales minerales requeridos por estos microorganismos para llevar a cabo sus procesos metabólicos. A nivel celular estos iones, son electrolitos que participan en el transporte activo de solutos entre los líquidos internos y el ambiente externo para mantener la presión osmótica de la célula, por lo tanto, son indispensables para estos microorganismos (Bustamante y Cuba, 2013).

CONCLUSIONES

El pasto Cayman resultó ser ligeramente tolerante al estrés salino debido a que presentó mayor porcentaje de cenizas y extracto etéreo en concentraciones salinas mayores a 4.0 dS m^{-1}. A los pastos Cayman y Cobra el estrés salino de 10.0 dS m^{-1} afectó la síntesis de proteína vegetal, debido a que registraron una disminución de proteína cruda de 8.42 y 18%, respectivamente. Los pastos evaluados no registraron cambios importantes en las fracciones de FDN y FDN debido a que en estos forrajes el estrés salino no afectó el grosor de la pared celular. Durante la fermentación ruminal *in vitro* no se determinaron cambios en la DIVMS, población de bacterias y protozoarios, producción de biogás y emisiones de CH_4 y CO_2 a las 72 horas de incubación en los dos tipos de pastos; dado a que los niveles de salinidad en los pastos Cayman y Cobra no afectaron el crecimiento de los microrganismos ruminales y, por tanto, no se presentaron cambios importantes durante la fermentación. Sin embargo, es importante resaltar que en esta investigación se produjeron menores proporciones de CH_4 y CO_2 en todos los tratamientos en comparación a otras investigaciones.

Se sugiere realizar ensayos *in vivo* para valorar los parámetros ruminales, las proporciones de CH_4 y CO_2, así como evaluar los parámetros productivos en rumiantes que consumen los pastos Cayman y Cobra crecidos en condiciones de estrés salino.

Agradecimientos
Se agradece a CONACYT por la beca otorgada para estudios de posgrado de Silvia Santos-Jerónimo. Así como al Grupo Papalotla S.A. de C.V., por el material vegetal otorgado para la realización de la presente investigación y el financiamiento para análisis de muestras. Igualmente, nuestro agradecimiento al Dr. Mario A. Cobos Peralta responsable del laboratorio de Microbiología Ruminal y Genética Microbiana del Colegio de Postgraduados por su apoyo en la realización de los análisis de laboratorio.

Funding. This study was funded by CONACYT through the postgraduate scholarship granted to Silvia Santos-Jerónimo, by Grupo Papalotla S.A. de C.V., and by the College of Postgraduates.

Conflict of interests. The authors declare that we agree with the order in which each author appears in the document, without any conflict of interest on the part of the authors.

Compliance with ethical standards. The present study followed the ethical standards declared by the Animal Protection and Development Committee of the State of Oaxaca.

Data availability. The data is available from Serafin Jacobo López Garrido (serafin@zicatela.umar.mx), upon reasonable request.

Author contribution statement (CRediT). Serafín Jacobo López-Garrido- Conceptualization, Methodology, Project administration, Validation, Visualization, Writing – original draft., **Silvia Santos-Jerónimo** - Data curation, Investigation., **Edgar Iván Sánchez-Bernal**- Conceptualization, Methodology, Project administration, Validation., **Mónica Marcela Galicia-Jiménez**-Visualization, Writing – review & editing., **Narciso Ysac Ávila-Serrano**- Data curation, Formal análisis., **Marco Antonio Camacho Escobar**- Project administration., **Paulino Sánchez Santillán**- Supervision., **David Hernández Sánchez**- Supervision.

REFERENCIAS

Abdelhamid-Magdi, T., Sadak-Mervat, S.H., Schmidhalter, R.S. and El-saady, A.M., 2013. Interactive effects of salinity stress and nicotinamide on physiological and biochemical parameters on faba bean plant. *Acta Biológica Colombiana*, 18(3), pp. 499-510. https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/38953

Al-Dakheel, A.J., Iftikhar-Hussain, M. and Abdul-Rahman, A.M., 2015. Impact of irrigation water salinity on agronomical and quality attributes of *Cenchrus ciliaris* L. accessions. *Agricultural Water Management* 159, pp. 148-154. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2015.06.014

AOAC. Official methods of analysis. 1997. *Association of Official Analytical Chemists International*. 16th ed. Virginia, USA. pp. 69-83.

Araujo-Febres, O. and Vergara-López, J., 2007. Propiedades físicas y químicas del rumen.

Archivos Latinoamericanos de Producción Animal 15 (Suplemento 1), pp. 133-140. http://www.bioline.org.br/pdf?la07044

Attia-Ismail, S.A., 2015. Rumen physiology under high salt stress. pp:348-357 In: El Shaer and Squires, editors. Halophytic and Salt Tolerant Feedstuffs: Impacts on Nutrition, Physiology and Reproduction of Livestock. https://doi.org/10.1201/b19862

Barkla, B.J., Vera-Estrella, R., Balderas, E. and Pantoja, O., 2007. Mecanismos de tolerancia a la salinidad en plantas. *Biotecnología* 24 pp. 263-272. https://www.researchgate.net/profile/Omar-Pantoja/publication/237419076_Mecanismos_de_tolerancia_a_la_salinidad_en_plantas/links/0deec532bc8ca65bca000000/Mecanismos-de-tolerancia-a-la-salinidad-en-plantas.pdf

Ben-Ghedalia, D., Solomon, R., Miron, J., Yosef, E., Zomberg, Z., Zukerman, E., Greeberg, A. and T. Kipnis, A., 2001. Effect of water salinity on the composition and *in vitro* digestibility of winter-annual Ryegrass grown in the Arava desert. *Animal Feed Science and Technology* 91, pp. 139-147. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00218-8

Boga, M., Yurtseven, S., Kilic, U., Aydemir, S. and Polat, T., 2014. Determination of nutrient contents and *in vitro* gas production values of some legume forages grown in the Harran Plain Saline Soils. Asian Australasian. *Journal Animal Science* 27(6) pp. 825-831. https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13718

Bustamante, C.G. and Cuba, P.G., 2013. Electrolitos. *Revista de Actualización Clínica* 39, pp. 2017-2022. https://www.academia.edu/34686789/Revista_de_Actualizaci%C3%B3n_Cl%C3%ADnica_Volumen_39

Camacho-Escobar, M. A., Galicia-Jiménez, M. M., Sánchez-Bernal, E. I., Ávila-Serrano, N. Y. y López-Garrido, S. J., 2020. Producción de metano y bióxido de carbono *in vitro* de pastos tropicales de la costa de Oaxaca, México. *Terra Latinoamericana* Número Especial 38(2), pp. 425-434. https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.628.

Casierra-Posada, F., Ebert, G. y Lüdders, P., 2000. Efecto de la salinidad por cloruro de sodio sobre el balance de nutrientes en plantas de lulo (*Solanum quitoense* L.). *Agronomía Colombiana* 17, pp. 85-90. https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/21591

Cobos-Peralta, M.A and Yokoyama, M. T., 1995. *Clostridium paraputrificum* var. *Ruminantium*: colonization and degradation of shrimp carapaces *in vitro* observed by scanning electron microscopy. pp:151-161 In: Rumen Ecology Research Planning. Proc. of Workshop held at International Livestock Research Institute. Addis Abeba, Etiopía. Nairobi, Kenya. https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/2725

Cobos-Peralta, M.A., Mata-Espinosa, M.A., Pérez-Sato, M., Hernández-Sánchez, D. y Ferrera-Cerrato, R., 2011. Envases de polietilentereftalato molidos y su función como sustituto de fibra en la dieta de borregos. *Agrociencia* 45, pp. 33-41. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952011000100004&lng=es&nrm=iso

Cobos-Peralta, M.A., Curzaynz-Leyva, K.R., Rivas-Martínez, M.I., Santillán-Gómez, E.A. y Bárcena-Gama, J. R., 2018. Efecto *in vitro* de dietas para corderos más un suplemento de granos secos de destilería en la fermentación ruminal y emisiones de gases. *Agrociencia* 52(2), pp. 203-215. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952018000200203&lng=es&nrm=iso

Costa, E. C. B., Araujo, G. G. L., Olivera, J. S., Santos, E. M., Enriques, L. T., Perazzo, A. F., Zanine A. M., Pereira, G. A. and Pinno, R. M. A., 2019. Effect of salt concentrations on *in vitro* rumen fermentation on cellulose, starch and protein. *South African Journal of Animal Science* 49(6), pp.1139-1146. https://www.ajol.info/index.php/sajas/article/view/193637

El Shaer, H.M., 2010. Halophytes and salt-tolerant plants as potential forage for ruminants in the Near East region. *Small Ruminant Research* 91(1), pp. 3-12. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.01.010

Elfeel, A. and Bakhashwain, A.A., 2012. Salinity effects on growth attributes mineral uptake, forage quality and tannin contents of *Acacia saligna* (Labill.) H. Wendl. *Research Journal of Environmental and Earth Science* 4(11), pp. 990-995. https://maxwellsci.com/print/rjees/v4-990-995.pdf

Erwin, E. S., Marco G.J. and Emery E.M., 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal*

Dairy Science 44, pp. 1768-1776. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(61)89956-6

Fernández-Martínez, S. I., 2010. Análisis espacial geo estadístico para caracterizar la salinidad de los suelos del ex lago de Texcoco, México. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, México.

Ferreira, S.J., Cornacchione, M.V., Liu, X. and Suarez, D.L., 2015. Nutrient composition, forage parameters, and antioxidant capacity of alfalfa (*Medicago sativa*, L.) in response to saline irrigation water. *Agriculture* 5, pp. 577-597. https://doi.org/10.3390/agriculture5030577

Fuentes, L., Y. Pérez, Y., Domínguez, A, Mesa, A.R., González S., 2008. Influencia del NaCl en indicadores bioquímicos evaluados en callos de *Stylosanthes guianensis* CIAT-184. *Pastos y Forrajes* 31(1), pp. 35-46. https://payfo.ihatuey.cu/index.php?journal=pasto&page=article&op=view&path[]=686

Glover, D. E., Kielly, G.A., Jefferson, P.G. and Cohen, R.D.H., 2004. Agronomic characteristics and nutritive value of 11 grasses grown with irrigation on a saline soil in southwestern Saskatchewan. *Canadian Journal of Plant Science* 8 pp. 1037-1050. https://doi.org/10.4141/P03-073

González-Romero, S.L., Quero-Carrillo, A.R., Franco-Mora, O, Ramírez-Ayala, C, Ortega-Escobar, H.M. and Trejo-López, C., 2011. Tolerancia a la salinidad del pasto Banderita (*Bouteluoa curtipendula*) en la etapa de germinación en dos regímenes de temperaturas. *Ciencia Ergo Sum*. 17(3), pp. 277-285. https://www.redalyc.org/pdf/104/10415212006.pdf

Harrigan, W.F. and E.M. McCance., 1979. Métodos de laboratorio en Microbiología de alimentos y productos lácteos. Ed. Academia. León, España, 361- 366 pp.

Herrera, G.R.S., 2014. Algunos aspectos que pueden influir en el rigor y la veracidad del muestreo de pastos y forrajes. *Avances en Investigación Agropecuaria* 18(2) pp. 7-26. https://doaj.org/article/d7bccf2311f248369af34c6f6e31fa99

Hungate, R.E., 1969. A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. *Methods in Microbiology*. 3 pp. 117-132. https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70503-8

Kaplan, M., Baser, M., Kale, H., Irik, H.A., I. Ulger, I. and Unlukara, A., 2017. Change in yield and chemical composition of tall fescue (*festuca arundinacea schreb*.) plants under salt stress. *Turkish Journal of Field Crops* 22(2), pp. 204-210. https://doi.org/10.17557/tjfc.356220

Kara, K., Aktug, E. and Özkaya, S., 2016. Ruminal digestibility, microbial count, volatile fatty acids and gas kinetics of alternative forage sources for arid and semi-arid areas as *in vitro*. *Italian Journal of Animal Science* 15(4). Pp. 673-680. https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1249420

Kosová, K., Prášil, I.T. and Vítámvás, P., 2013. Protein contribution to plant salinity response and tolerance acquisition. *International Journal of Molecular Sciences* 14, pp. 6757-6789. https://doi.org/10.3390/ijms14046757

Krabill, L. F., Alhassan, W. S. and Satter, L. D., 1969. Manipulation of the ruminal fermentation. II. Effect of sodium sulfite on bovine digestion and ruminal fermentation. *Journal Dairy Science*. 52, pp. 1812-1816. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(69)86846-3

Krause, K. M., G. R. Oetzel and G. R., 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: *A review*. *Animal Feed Science and Technology* 126 pp. 215–236. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.08.004

Kumar, A., Agarwal, S., Kumar, P. and Singh, A., 2010. Effects of salinity on leaf grain protein in some genotypes of oat (*Avena sativa* L.). *Recent Research in Science and Technology* 2(6), pp. 85-87. https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20103339552

Lams, P. A. y González, C. M. C., 2013. La salinidad como problema en la agricultura: La mejora vegetal una solución inmediata. *Cultivos Tropicales* 34(4), pp. 31-42. https://www.redalyc.org/pdf/1932/193228546005.pdf

Ley de Coss, A., C. Guerra-Medina, C., Montañez-Valdez, O., Guevara, F., Pinto, R. y Reyes-Gutiérrez, J., 2018. Producción *in vitro* de gas metano por gramíneas forrajeras tropicales. *Revista MVZ Córdoba* 23(3), pp. 6788-6798. https://doi.org/10.21897/rmvz.1368

Martínez-Villavivencio, N., López-Alonzo, C.V., Basurto-Sotelo, M. y Pérez-Leal, R., 2011. Efectos por salinidad en el desarrollo vegetativo. *Tecnociencia* 5(3), pp. 156-161. https://vocero.uach.mx/index.php/tecnociencia/article/view/694

Masters D., Edwards, N., Sillence, M., Avery, A., Revell, D., Friend, M., Sanford, P., Saul, G., Beverly, C. and Young, J., 2006. The role of livestock in the management of dryland salinity. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 46, pp. 733-741. https://doi.org/10.1071/EA06017

McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F. and Morgan, C.A., 2002. Nutrición animal. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza España. Sexta edición 91-120 pp.

Mellenberger R.W., Satter, L.D., Millett, L.A. and Baker, A.J., 1970. An *in vitro* technique for estimating digestibility of treated and untreated wood. *Journal Animal Science* 30, pp. 1005-1011. https://doi.org/10.2527/jas1970.3061005x

Müller-Queiroz, H., Sodek, L. and Baptista-Haddad, C.R., 2012. Effect of salt on the growth and metabolism of *Glycine max*. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 55(6), pp. 809-817. https://doi.org/10.1590/S1516-89132012000600002

Munns, R., 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist* 167, pp. 645–663. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01487.x

Muñoz-González, J.C., Huerta-Bravo, M., Lara-Bueno, A., Rangel-Santos, R., de la Rosa Arana, J.L. 2016. Producción y calidad nutrimental de forrajes en condiciones del Trópico Húmedo de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 16, pp. 3315-3327. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342016001203315&lng=es&nrm=iso

Nack, M. F., Van Emon, M. L., Wayffels, S. A., Manoukian, M. K., Carlisle, T. J., Davis, N. G., Kirkpatrick, T. J., Kluth, J. A., DelCurto-Wyffels, H. M. and DelCurto, T., 2021. Impact of increasing levels of NaCl in drinking water on the intake and utilization of low-quality forages by beef cattle hand-fed a protein supplement or protein supplement containing 25% salt. *Translational Animal Science* 5, pp. S101-S105. https://doi.org/10.1093/tas/txab183

Ortega-Aguirre, C.A., Lemus-Flores, C., Bugarín-Prado, J.O, Alejo-Santiago, G., Ramos-Quirarte, A., Grageola-Núñez, O. y Bonilla-Cárdenas, J., 2015. Características agronómicas, composición bromatológica, digestibilidad y consumo animal en cuatro especies de pastos de los géneros *Brachiaria* y *Panicum*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 18(3), pp. 291-301. https://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/1935/980

Petropoulos, S.A., Levizou, E., Ntatsi, G., Fernandes, A., Petrotos, K., Akoumianakis, K., Barros, L. and Ferreira, I., 2017. Salinity effect on nutritional value, chemical composition and bioactive compounds content of C*ichorium spinosum* L. *Food Chemistry* 214, pp. 129-136. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.080

Pizarro, E.A., Hare, M., Mutimura, M. and Changjun, B., 2013. *Brachiaria* hybrids: potential, forage use and seed yield. Tropic. Grasslands - *Forrajes Tropicales*. 1(1), pp. 31-35. https://doi.org/10.17138/tgft(1)31-35.

Pratti-Daniel, J.L., Fernandes-Bernardes, T., Cabreira-Jobim, C., Schmidt, P. and Nussio, L.G., 2019. Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. *Grass and Forage Science* 74(2), pp. 188-200. https://doi.org/10.1111/gfs.12417

Preeti, N.K., Kundu, S.S. and Sharma, A., 2018. Effect of saline water on rumen fermentation and serum profile in Murrah male calves. *Indian Journal of Animal Research* 52(1), pp. 65-71. https://doi.org/10.18805/ijar.v0iOF.7824

Robinson P.H., Grattan, S.R., Getachew, G., Grieve, C.M., Poss, J.A., Suarez, D.L. and Benes, S.E., 2004. Biomass accumulation and potential nutritive value of some forages irrigated with saline-sodic drainage water. *Animal Feed Science and Technology* 111, pp. 175-189. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(03)00213-X

Rosa, P.R., Araujo, G.L., Turco, S.N., Moraes, S.S., Alves, J.N., Gois, G.C., Santos, D. and Campos, F. S., 2019. Ingestive behavior and physiological parameters of sindhi heifers receiving saline water. *Journal of Agricultural Science* 11 (4), pp. 381-394.

Salamanca, A., 2010. Suplementación de minerales en la producción bovina. *Revista Electrónica de Veterinaria* 11(9), pp. 1695-7504. https://www.redalyc.org/pdf/636/63615732008.pdf

Sánchez-Bernal, E.I., Santos-Jerónimo, S., Ortega-Escobar, H.M., López-Garrido, S.J. y Camacho-Escobar, M.A., 2020. Crecimiento de los pastos Cayman y Cobra en diferentes niveles salinos de NaCl, en invernadero. *Terra Latinoamericana* Número Especial 38(2), pp. 391-401. https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.613

Segura, S.F., Echeverri, R.F., Patiño, A.L. y Mejía, A.G., 2007. Descripción y discusión acerca de los métodos de análisis de fibra y del valor nutricional de forrajes y alimentos para animales. *Vitae* 14(1), pp. 72-81. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-40042007000100011

Serrano-Altamirano, V., Silva-Serna, M.M., Cano-García, M.A., Medina-García, G. y Ruiz-Corral, A., 2005. Estadísticas climatológicas básicas del Estado de Oaxaca (Periodo 1961-2003). INIFAP-SAGARPA. Libro técnico N. 4 Oaxaca, México, 272 pp.

Steel, G. D. and Torrie, J.H., 1988. Bioestadística: Principios. McGraw Hill. México. 622 pp.

Uzun, S., Uzun, O., Kaplan, M. and Ilbas, A.I., 2013. Response of bitter vetch lines to salt stress. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 19(5), pp. 1061-1067. http://www.agrojournal.org/19/05-23.pdf

Valtorta, E.S., Gallardo, M.R., Sbodio, A.O., Revelli, G.R., Arakaki, C., Leva, P.E., Gaggiotti, M. and Tercero, E.J., 2008. Water salinity effects on performance and rumen parameters of lactating grazing Holstein cows. *International Journal of Biometeorology* 52, pp. 239-247. https://doi.org/10.1007/s00484-007-0118-3

Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in ration to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74(10), pp. 3583-3597. https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(91)78551-2/pdf

Villa-Castorena, M., Catalán-Valencia, E.A., Inzunza-Ibarra, M.A. y Ulery, A. L., 2006. Absorción y traslocación de sodio y cloro en plantas de chile fertilizadas con nitrógeno y crecidas con estrés salino. *Revista Fitotecnia México* 29 (1), pp. 79-88. https://www.redalyc.org/pdf/610/61029111.pdf

Williams, B.A. 2000. 10 Cumulative Gas-Production Techniques for forage Evaluation. Pp. 189-211 *In*: Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=78WIrCCJW-MC&oi=fnd&pg=PA189&dq=Forage+Evaluation+in+Ruminant+Nutrition.&ots=gkDrb4EOTv&sig=fb4vhPtJFunLSzym-2l68_ufaS0#v=onepage&q=Forage%20Evaluation%20in%20Ruminant%20Nutrition.&f=false

Worku-Daba, A., Sarwar-Qureshi, A. and Nekir-Nisaren, B., 2019. Evaluation of some Rhodes grass (*Chloris gayana*) genotypes for their salt tolerance, biomass yield and nutrient composition. *Applied Sciences* 9(143), pp. 1-12. https://doi.org/10.3390/app9010143