

DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD NUTRITIVA, FERMENTACIÓN In Vitro Y METABOLITOS SECUNDARIOS EN ARVENSES Y RASTROJO DE MAÍZ UTILIZADOS PARA LA ALIMENTACIÓN DEL GANADO LECHERO

[NUTRITIVE VALUE, In Vitro FERMENTATION AND SECONDARY METABOLITES OF WEEDS AND MAIZE STRAW USED FOR FEEDING DAIRY CATTLE]

R. Martínez-Loperena¹; O. A. Castelán-Ortega²; M. González-Ronquillo³; J. G. Estrada-Flores^{*1}

¹Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales (ICAR),;

²Facultad de Ciencias Agrícolas;

³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario No. 100, Colonia Centro, Toluca, Estado de México, C.P. 50000

*E mail: jgestradaf@uaemex.mx

*Corresponding Author

SUMMARY

In the highlands of Central Mexico a surplus of different forages is observed during the rainy season particularly weeds, which grow in maize fields. Weeds are widely used by farmers to feed dairy cattle. The objective of the present work was to determine the nutritive value of weeds, their content of secondary metabolites, and their effect on in vitro fermentation kinetics when included (at different levels of inclusion) in a diet based on maize straw. The present study was carried out in two regions of the Toluca valley from August to October 2007. A split plot design was used to evaluate the variables associated with the nutritive value and a randomized design was employed to evaluate the content of secondary metabolites in the different weed species. Significant differences (P<0.001) were observed in the CP content associated with the maturity stage of the plants, P3 being different from the other two periods. Significant differences (P<0.01) were observed in NDF content for both species and treatments. The highest NDF content was observed in Echinochloa oplismenoides. For the case of treatments the content of NDF increased linearly as the inclusion levels of maize straw augmented. The soluble carbohydrate fraction (a) was highest (P<0.05) in Tridax coronopifolia, Tripogandra purpuracens y Drymaria laxiflora. The insoluble but potentially degradable fraction (b) was significantly different for species (P<0.01), treatments and periods (P<0.001). Gas production increased linearly with growing inclusion levels of maize straw, on the contrary the fermentation rate of fraction b (cb) decreased (0.04 to 0.02) at high inclusion levels. The cb rate increased (P<0.001) from period 1 to period 3. The lag period by species ranged from 6.45 h in

Bidens odorata to 12.84 h in *Tripogandra* purpuracens. Weed species like *Drymaria laxiflora*, *Tithonia tubiformis*, *Oxalis divergens*, *Tripogandra* purpuracens y *Simsia amplexicaulis* showed low tannins phenolics content, so it is suggested that they can be used as forage to feed dairy cattle. It is concluded that the inclusion of weeds in dairy cattle diets based on maize straw increases CP content and improves fermentation kinetics, particularly the a fraction and the fermentation rate of the b fraction.

Key words: weeds, *In Vitro* rumen fermentation. secondary metabolites

RESUMEN

En los sistemas campesinos del altiplano central mexicano en la época de lluvias existe una gran disponibilidad de recursos naturales forrajeros, tal es el caso de las arvenses (plantas que crecen dentro de los cultivos de maíz), que son ampliamente utilizadas para la alimentación del ganado lechero. El objetivo fue determinar la calidad nutritiva, metabolitos secundarios de las arvenses y el efecto que tienen en la cinética de fermentación ruminal al ser mezcladas con el rastrojo de maíz en diferentes proporciones. El estudio se realizó en dos zonas del Valle de Toluca en los meses de Agosto a Octubre de 2007, se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas para las variables proteína cruda (PC), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), digestibilidad de la materia seca (dMS) y digestibilidad de la fibra detergente neutro (dFDN).Para el caso de los metabolitos secundarios se utilizó un diseño completamente al azar en donde las especies fueron los tratamientos. El efecto negativo más notorio en

cuanto al aporte de proteína debido al estado de madurez se presentó en el periodo 3 (p<0.001). Para el caso de la FDN se encontraron diferencias significativas (p<0.001) tanto para especies como para tratamientos, el mayor contenido de FDN por especie lo obtuvo Echinochloa oplismenoides mientras que para el caso de los tratamientos se observó que a mayor inclusión de rastrojo de maíz el contenido de FDN se incrementó. La fracción de carbohidratos solubles (a) fue significativamente mayor (p<0.01) en las especies Tridax coronopifolia, Tripogandra purpuracens y Drymaria laxiflora. La fracción de los carbohidratos insolubles pero potencialmente degradables (b) fue significativamente diferente para especie (p<0.01), tratamiento y periodo (p<0.001). En el caso de los tratamientos a mayor inclusión de rastrojo de maíz se incrementó la producción de gas. La tasa de fermentación de la fracción b (cb) se afectó por el nivel de inclusión de rastrojo de maíz, dado que a mayor nivel de inclusión la tasa disminuyó de 0.04 a

INTRODUCCIÓN

En el altiplano central mexicano la forma de producción de leche esta dominada por los sistemas campesinos. Estos sistemas cuentan con pequeñas superficies de tierra las cuales generalmente son sembradas con maíz, por lo que éste es el principal recurso forrajero y es la base de la alimentación del ganado (Castelán et al., 1997; Villa et al., 1998). Una vez que los productores colectan el grano, el rastrojo es cortado y almacenado para su posterior utilización como forraje, sobre todo en la época de estiaje. Por otra parte, en la época de lluvias el panorama cambia notablemente ya que existe una gran disponibilidad de recursos naturales forrajeros, tal es el caso de las arvenses (plantas que crecen dentro de los cultivos de maíz), que son ampliamente utilizadas para la alimentación del ganado (Castelán et al., 2003 a,b; Estrada, 2005). Este tipo de prácticas son comunes en los sistemas de producción campesinos con recursos económicos limitados, por lo tanto su uso representa un ahorro considerable en la compra de forrajes y una mejora en la alimentación del ganado. Así lo muestran Castelán et al. (2003a) que determinaron la calidad nutritiva v cinética de fermentación de doce especies de arvenses; de las cuales Sicyos deppei G., Jaltomata procumbens (Cav.), Drymaria laxiflora Benth y Lopezia racemosa Cav. representan las cuatro especies con buena calidad nutritiva debido a sus altas tasas de fermentación y un contenido alto de proteína cruda (PC). Sin embargo, este tipo de plantas generalmente tiene un alto contenido de metabolitos secundarios como polifenoles y saponinas (Reed et al., 2000; We-Lian et al., 2005; Puchala et al., 2004; McSweeney et al., 2001), los cuales tienen efectos importantes sobre la fermentación ruminal. Conocer el 0.02. En el caso de los periodos existe un aumento importante de cb para el periodo 3 (P<0.001). El tiempo *lag* por especie (p<0.01) presenta una variación que va desde 6.45 h en Bidens odorata hasta 12.84 h Tripogandra purpuracens. Especies Drymaria laxiflora, Tithonia tubiformis, Oxalis divergens, Tripogandra purpuracens y Simsia amplexicaulis tienen bajos contenidos de taninos fenólicos, por lo que se concluye que la presencia de metabolitos secundarios no tiene un efecto directo sobre la fermentación ruminal rumen, por lo que pueden ser utilizadas como alimento para el ganado lechero, por otro lado un elevado nivel de inclusión de las arvenses sobre el rastrojo de maíz aumenta el aporte de PC y mejora la cinética de fermentación específicamente en la fracción a y tasa de cb.

Palabras clave: Arvenses; Fermentación ruminal *In Vitro*; Metabolitos secundarios

contenido de metabolitos secundarios y sus efectos sobre la fermentación ruminal cuando son alimentadas solas y en combinación con otros forrajes es esencial en el diseño de mejores estrategias de alimentación en los sistemas donde estas especies de plantas se utilizan. Los metabolitos secundarios de las plantas son un grupo diverso de moléculas que están encargadas de la adaptación de la planta a su ambiente, pero no son parte de las rutas bioquímicas primarias del crecimiento celular y reproductivo de la misma. Estos componentes están involucrados en la defensa de la planta contra los herbívoros y patógenos, regulación de simbiosis, controlan la germinación de la semilla y la inhibición química por la competencia con otras especies. Por lo tanto, la importancia de los metabolitos secundarios radica en la interacción que existe entre las diversas especies de plantas y animales. Sin embargo, estos metabolitos secundarios en forrajes también han sido asociados con el mejoramiento del valor nutritivo y efectos benéficos sobre la salud animal (Reed et al., 2000) ya que estos compuestos protegen la degradación de la proteína en el rumen permitiendo su absorción a nivel intestinal (Dijkstra et al., 2002; Makkar, 2003; Reed et al., 2000). De ahí que el objetivo de este estudio fue conocer la calidad nutritiva y el contenido de metabolitos secundarios presentes en las arvenses y el efecto en la cinética de fermentación in vitro al ser mezcladas con un forraje convencional como el rastrojo de maíz, el cual es el forraje más comúnmente empleado por los ganaderos en el altiplano central de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de muestreo

El estudio se llevó a cabo en dos localidades del Valle de Toluca. la primer comunidad fue Taborda municipio de Temoaya, se localiza aproximadamente a 20 km. al norte de la ciudad de Toluca, Estado de México; se encuentra a una altitud aproximada de 2 630 msnm entre las coordenadas 19° 27' latitud norte 39.8' longitud oeste, el clima es (w2)(w)(i')(g), la temperatura anual es de 14°C y la precipitación pluvial anual es de 800 a 1200 mm. La segunda comunidad fue Santa Juana Centro municipio de Almoloya de Juárez, se localiza entre las coordenadas 19° 33' 01" de latitud norte y 99° 42' 07" y 99° 56' 13" de longitud oeste, prevalece un clima Cw. La temperatura promedio es de 12.5 °C, la precipitación pluvial anual es de 788.1 mm (Martínez y Vicencio, 1998).

Determinación de la abundancia de especies de arvenses

La colecta de muestras se realizó en 10 parcelas de cultivo de maíz. El método utilizado fue el propuesto por Castelán-Ortega (1999) y Castelán *et al.* (2003a). El cual consiste en contar el número de individuos de cada especie presentes en un cuadrante de 0.5 x 0.5 metros con una repetibilidad de 15 cuadrantes por parcela. Adicionalmente se tomaron cada una de las especies encontradas por separado para su posterior identificación botánica. Los periodos de muestreo comenzaron a partir del mes de Agosto hasta Octubre, meses en los cuales las especies se encuentran en floración y cuando tradicionalmente son utilizadas por los campesinos para la alimentación del ganado. Para la determinación de abundancia se empleó la fórmula propuesta por García *et al.* (2000)

 $A = \frac{Vsj}{Cs} \times 100$

Donde:

A: Abundancia

Vsj: Valor obtenido por las especies de los cuadrantes Cs: Número total de los cuadrantes con las especies

Una vez conocida la abundancia de especies se seleccionaron las diez más abundantes que se presentaron en todos los periodos de muestreo.

Determinación de la cinética de fermentación y metabolitos secundarios

Una vez colectadas las arvenses fueron separadas por especie. Se obtuvo una mezcla por especie juntando al menos cinco individuos provenientes de diversas

parcelas las cuales fueron utilizadas para el análisis químico proximal y para la cinética de fermentación ruminal. Las muestras se secaron en una estufa de aire forzado a 60°C y se molieron en un molino Willey a un tamaño de partícula de 1 mm. Posteriormente se realizaron cinco mezclas de cada una de las diez especies con rastrojo de maíz, con las siguientes proporciones 100/0, 80/20, 60/40, 40/60 y 20/80 arvense-rastrojo de maíz respectivamente. Para la determinación de metabolitos secundarios las muestras se colocaron por especie en una secadora botánica a aproximadamente 30°C durante 72 h.

Para determinar la cinética de fermentación ruminal se utilizó la técnica de producción de gas in vitro propuesto por Menke et al. (1979) y modificado por la Universidad de Reading según Mauricio et al. (1999). Aproximadamente 0.9999 mg MS de las mezclas de cada especie fueron incubadas en botellas de vidrio con 90ml de solución buffer y 10ml de líquido ruminal teniendo una réplica de tres botellas por muestra. El líquido ruminal fue colectado de dos vacas canuladas que fueron alimentadas con una dieta basada en 83% de forraje y 17% de concentrado. Las botellas fueron incubadas en un baño María a 39°C. El volumen de gas fue registrado cada hora durante las primeras ocho horas posteriormente a las 12, 16, 20, 24, 28, 36, 44, 52 y 72 horas de incubación. Después del periodo de incubación los residuos fueron removidos con agua destilada y filtrados en crisoles goosh del número uno, posteriormente se llevaron a una mufla a 105°C por una hora, para la determinación de la digestibilidad de la materia seca (dMS) para el caso de la digestibilidad de la fibra detergente neutro (dFDN) los residuos se removieron con 50 ml de solución FDN. posteriormente se colocaron en una autoclave a 105°C por una hora, se filtraron en crisoles goosh del número uno, para después ser llevados a una mufla en donde permanecieron a 105°C por una hora, una vez terminado este proceso, se volvieron a colocar en la mufla a 450°C por 4 horas. El cálculo de la dMS se realizó por diferencia de peso entre la muestra inicial y la MS del residuo de producción de gas, mientras que para la dFDN se calculó con la digestibilidad del contenido de la FDN de la muestra entre el contenido de FDN de la muestra inicial (Pell y Shofield, 1993) El volumen acumulado de gas de cada una de las botellas se ajustó al modelo matemático propuesto por Jessop y Herrero (1996), GP= $a \times (1-\exp(-ca+t)) + b \times (1-\exp(-ca+t))$ cb x (t-lag))) x (t>lag) x -1. Donde PG es la producción acumulada de gas (ml), a es la producción de gas a partir de la fermentación (ml) de la fracción soluble de los carbohidratos, b es la producción potencial de gas (ml) a partir de la fracción insoluble pero potencialmente degradable, ca es la tasa de fermentación de la fracción a, cb la tasa de fermentación de la fracción b y lag es el tiempo en horas antes de iniciar la fermentación de la FDN. Para

el ajuste de las curvas de producción de gas se utilizó el programa Grafit v3. Para cada una de las muestras (Arvenses y rastrojo de maíz) con sus respectivas mezclas, se determinó la concentración de N por el método Kjeldahl (AOAC, 1990) y se multiplicó por 6.25 para determinar su contenido de proteína cruda (PC), para el caso de fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) por el método de Van Soest et al. (1991). La cuantificación de metabolitos secundarios (fenoles totales, taninos fenólicos y taninos no fenólicos) se realizó a las diez especies más abundantes. La cantidad de fenoles totales se calculó como el equivalente de ácido tánico con la curva de calibración. La cantidad de taninos fenólicos se determinó utilizando polivinil polipilirridone (PVPP) a través de la curva de calibración y los taninos no fenólicos por diferencia entre fenoles totales y taninos fenólicos (Makkar, 2003).

Diseño Experimental

Se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas (Steel y Torrie, 1997) en el cual la parcela mayor fueron las especies, la parcela menor los tratamientos o inclusiones de arvense/rastrojo de maíz y los bloques los periodos. Las variables analizadas fueron la composición química, digestibilidad *in vitro* y cinética de fermentación ruminal. El modelo general lineal utilizado fue el siguiente:

$$Y_{iik} = \mu + P_i + E_i + \delta_{ii} + T_k + (E \times T)_{ii} + e_{iik}$$

Donde:

Y es la variable respuesta

 μ es la media general

 P_i el efecto del periodo (i=1, 2, 3)

 \mathbf{A}_i es parcela mayor (i=1, ..., 10) que son las arvenses $\boldsymbol{\delta}_i$ es el error asociado con la parcela mayor

 $\mathbf{T}_{\mathbf{k}}$ es parcela menor (k=1,....5) que son los tratamientos (arvenses : rastrojo de maíz)

E x T es la interacción entre especies y tratamientos e_{iik} es el efecto del error residual.

Para los fenoles totales, taninos fenólicos y taninos no fenólicos se utilizó un diseño completamente al azar (Steel y Torrie, 1997), donde los tratamientos fueron las especies. El modelo general lineal utilizado fue:

 $Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$

Donde:

 \mathbf{Y}_{ij} es la variable respuesta $\boldsymbol{\mu}$ es la media general t_i el efecto debido a las especies (i=1,...10) e_{ij} el error residual

Análisis Estadístico

Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza y se expresaron en medias con su respectivo error estándar. La diferencia entre medias (p<0.05) se calculó mediante la prueba de Tukey. Se empleó el comando de Modelo General Lineal del paquete estadístico MINITAB v14 (2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Selección de especies

El Cuadro 1 muestra las diez especies seleccionadas por el valor de su abundancia, las familias con mayor número de especies fueron Asteraceae y Poaceae con 9 y 8 especies respectivamente, familias como Cucurbitaceae, Oxalidaceae, Poligonaceae, entre otras sólo registraron una especie. La especie *Oxalis divergens* de la familia Oxalidaceae fue la que presentó una mayor abundancia.

Composición química

En cuanto a la composición química de las especies, el Cuadro 2 muestra que las especies con mayor contenido de PC son Oxalis divergens y Drymaria laxiflora, la especie con menor contenido (p< 0.001) fue Bidens odorata. Se observa que la inclusión de niveles bajos de rastrojo de maíz a las arvenses incrementa el contenido de proteína en los tratamientos 80/20 y 60/40 comparado con la cantidad de proteína en el rastrojo de maíz solo (Cuadros 2 y 4). Niderkorn y Baumont (2009) mencionan que la suplementación de forrajes de baja y mediana calidad, altos niveles de lignina y bajos niveles de N en combinación con plantas de otras especies más nutritivas, es una estrategia importante para mejorar la calidad de la mezcla de forrajes en su conjunto; sin embargo, la planta complementaria deberá proveer a los microorganismos del rumen los nutrientes requeridos para su crecimiento y actividad fibrolítica, en especial proteína y energía. Estos nutrientes especialmente el N, se deben encontrar en forma fácilmente disponible para los microorganismos del rumen, aportando por ejemplo el amonio y los carbohidratos solubles necesarios para la síntesis de proteína microbiana en el rumen. Por lo que la presencia de una fuente de fácil fermentación de celulosa y hemicelulosa en la dieta incrementa el número de microorganismos fibrolíticos, estimulando la digestibilidad de otras fuentes bajas en fibras menos degradables como lo es el rastrojo de maíz (Fisher et al., 1995). Este efecto se aprecia claramente pues la dMS es mayor a altos niveles de inclusión de arvenses en la mezcla, no así la dFDN la cual disminuye; esto sugiere que la fibra de las arvenses es menos digestible por un lado, y por otro lado, que la cantidad de carbohidratos (CH) y PC fácilmente fermentables es mayor en las arvenses que en el rastrojo de maíz.. El efecto más representativo en cuanto al aporte de proteína debido al estado de madurez se presentó en el periodo 3 (p<0.001), donde se observaron las menores concentraciones, probablemente asociados a la senescencia de las plantas (Pinto *et al.*, 2002; Tas *et al.*, 2006).

Para el caso de la FDN se encontraron diferencias significativas (p<0.001) tanto para especies como para tratamientos; el mayor contenido por especie lo obtuvo *Echinochloa oplismenoides* mientras que para el caso de los tratamientos se observó que a mayor inclusión de rastrojo de maíz el contenido de FDN se incrementó, también los periodos se vieron afectados significativamente (p<0.01), el periodo 3 muestra un mayor contenido de FDN con respecto al resto. En el efecto de la FDA debido al tratamiento, el contenido de FDA se incrementa al elevar los niveles de rastrojo de maíz, lo cual puede deberse al contenido de FDA

del rastrojo de maíz (Cuadro 4). El contenido de FDA de algunas especies como *Cosmos bipinnatus, Simsia amplexicaulis* y *Tithonia tubiformis* son similares a los mencionados por Gutiérrez *et al.* (2008).

En cuanto a la dMS por especie se observaron diferencias (p<0.001) mostrando que *Tripogandra purpuracens y Echinochloa oplismenoides* tienen mayor dMS que el rastrojo de maíz. Aunque no existieron diferencias (p>0.05) por tratamiento hubo una disminución de la dMS a un nivel de inclusión de rastrojo mayor como es el caso del tratamiento 20/80; sin embargo, los valores para este parámetro siguen siendo superiores al del rastrojo de maíz. Esto sugiere que la inclusión de arvenses, aún en bajos niveles mejora la dMS debido, probablemente, a una mejoría en el contenido de PC y CH solubles como ya antes se mencionó. Los periodos tuvieron efecto significativo (p<0.01) para dMS, el periodo 3 mostró una mayor dMS.

Cuadro 1. Índice de abundancia de las diez especies de arvenses en cultivos de maíz seleccionadas en los tres periodos de muestreo en las dos zonas.

AGOSTO 2007		SEPTIEMBRE 2007	OCTUBRE 2007		
ESPECIE	A	ESPECIE	A	ESPECIE	A
Bidens anthemoides	2.08	Bidens anthemoides	2.48	Bidens anthemoides	2.03
Bidens odorata	2.43	Bidens odorata	1.81	Bidens odorata	2.19
Cosmos bipinnatus	4.20	Cosmos bipinnatus	3.25	Cosmos bipinnatus	1.00
Drymaria laxiflora	12.79	Drymaria laxiflora	10.66	Drymaria laxiflora	4.26
Echinochloa oplismenoides	7.13	Echinochloa oplismenoides	2.29	Echinochloa oplismenoides	3.37
Oxalis divergens	15.67	Oxalis divergens	10.65	Oxalis divergens	7.44
Simsia amplexicaulis	1.88	Simsia amplexicaulis	1.64	Simsia amplexicaulis	1.32
Tithonia tubiformis	2.67	Tithonia tubiformis	1.00	Tithonia tubiformis	1.64
Tridax coronopifolia	2.10	Tridax coronopifolia	3.47	Tridax coronopifolia	3.41
Tripogandra purpurascens	3.28	Tripogandra purpurascens	3.20	Tripogandra purpurascens	2.33

A: Índice de Abundancia

La dFDN por especie fue diferente (P<0.001), además que en todos los casos esta es mayor que la encontrada en el rastrojo de maíz (Cuadros 2 y 4), Oxalis divergens, Tripogandra purpuracens y Echinochloa oplismenoides son las especies que mostraron mayor dFDN. En el caso de los tratamientos se observó que a mayores concentraciones de rastrojo de maíz (tratamiento 20/80), aumenta la dFDN (P<0.001), mientras que la dMS aparentemente disminuye, aunque en este último caso no se observaron diferencias significativas (p>0.05).. Este hallazgo es relevante porque la dFDN puede tener un gran impacto en el consumo de materia seca de la dieta, Oba y Allen (2003) concluyen que por cada unidad de aumento en la dFDN de la dieta, resulta en un 0.177 kg/día de incremento en el consumo voluntario de MS, por lo tanto, vacas lecheras en lactación consumirán más

forraje, el cual posee un elevado contenido energético cuando los forrajes son altos en dFDN ya que existe una relación lineal entre la digestibilidad de la fibra y su contenido de energía metabolizable. De la misma forma se observó que la mezcla de rastrojo y las arvenses resultó en una mayor dFDN del rastrojo, la cual paso de 273 gr/kg MS (Cuadro 4) para el rastrojo solo a 550.6 g/kg MS cuando se incluye sólo un 20% de arvenses (Cuadro 2), esto sugiere que la inclusión de las arvenses mejora el ambiente ruminal probablemente debido al mayor aporte de proteína y carbohidratos solubles y degradables en el rumen. Por otro lado, el efecto debido a los periodos fue significativo (p<0.05) para todas las variables, con esto se confirma que el estado de madurez y la especie de arvenses determinan la composición química y la digestibilidad de la planta y que el manejo de estos dos

factores son determinantes para lograr un efecto positivo en la alimentación del ganado, como lo muestra la interacción altamente significativa (P<0.001) período*especie que se muestra en el cuadro 2. De esta forma la inclusión de arvenses en etapas tempanas de maduración en una dieta basal de rastrojo de maíz puede tener un efecto positivo en el ambiente ruminal y en el animal, debido a que las arvenses aportan una mayor cantidad de energía y proteína que están fácilmente disponibles para los microorganismos ruminales. Estas observaciones están en línea con Medina (2009) que menciona que para especies como *Tithonia diversifolia* la degradabilidad ruminal en la fase inicial de crecimiento de las plantas está asociada a un elevado valor nutritivo del forraje.

Cinética de fermentación ruminal

Los resultados de la cinética de fermentación se presentan en el Cuadro 3. La fracción a fue mayor (p<0.01) en las especies Tridax coronopifolia, Tripogandra purpuracens y Drymaria laxiflora con respecto al resto. En cuanto al efecto debido a los tratamientos, las combinaciones 40/60 y 20/80 son las que menos carbohidratos solubles proporcionan a la fermentación (p<0.001), esto se debe a que existe una mayor cantidad de FDN y por tanto la disponibilidad de fracciones solubles es menor (López et al., 2000). Por otro lado se observó un incremento en la fracción b en estos mismos tratamientos; sin embargo, la baja inclusión de rastrojo de maíz aumenta la fracción a, lo que sugiere que la combinación con las arvenses mejora la fracción soluble (a). Tas et al. (2006) mencionan que una mayor concentración de PC está asociada con una mayor tasa fraccional de degradación, éste comportamiento también se observó en los resultados presentados en este estudio en las especies Tridax coronopifolia, Bidens anthemoides, Tripogandra purpuracens, Drymaria laxiflora cuya tasa fraccional de degradación específicamente de la fracción soluble a va de 0.04 a 0.10.

La fracción b fue diferente para especie (p<0.01), tratamiento y periodo (p<0.001). En el caso de los tratamientos se observó que a mayor inclusión de rastrojo se incrementa la producción de gas, esto se debe a que el rastrojo de maíz aporta a la mezcla de forrajes una mayor cantidad de carbohidratos estructurales que son potencialmente degradables (Estrada-Flores et al., 2006), como lo muestra el Cuadro 4, FDN= 661 g/kg MS. También se observaron diferencias significativas para la tasa cb(p<0.01) para especie, periodo y tratamiento. Las especies con mayor tasa de fermentación fueron Tripogandra purpuracens, Tridax coronopifolia v Oxalis divergens. De la misma forma, cb fue afectada (P<0.001) por el nivel de inclusión de rastrojo, dado que a mayor nivel de inclusión la tasa disminuyó de 0.04 a 0.02 en los

tratamientos 100/0 y 20/80 respectivamente. Esto se debe a que la fracción b del rastrojo es de lenta degradación ya que, al igual que otras pajas, es rica en celulosa y lignina (Tolera y Sundstøl, 1999, Estrada et al., 2006), lo cual también explica la baja digestibilidad de la FDN que se observa en el Cuadro 4, dFDN= 276 g/kg MS. En el caso de los periodos se observó un aumento importante de cb para el periodo 3 (P<0.001), el cual es un resultado no esperado ya que al aumentar el grado de madurez de las plantas se incrementa la lignificación de las mismas y por lo tanto la fracción b se vuelve menos degradable para los microorganismos ruminales (Getachew et al., 2004), como lo indican los contenidos crecientes de FDN, FDA y la disminución de la dFDN entre los periodos 1 y 3 (Cuadro 2). Este incremento pudo ser debido a que probablemente algunas de las especies de arvenses se encontraban en etapas tempranas de madurez durante el período 3; sin embargo, es necesario llevar a cabo más estudios sobre el efecto de la etapa de madurez sobre la cinética de fermentación va que no todas las arvenses maduran al mismo tiempo (Castelán et al., 2003a) El tiempo lag por especie (p<0.01) presenta una variación que va desde 6.4 h. en Bidens odorata hasta 12.8 h en Tripogandra purpuracens, lo cual indica que el inicio de la fermentación de la FDN varía hasta 5 horas entre una especie y otra. Un menor valor en la fase lag sugiere que existe un aumento en la densidad energética de la ración lo que favorece el crecimiento microbiano y la rápida colonización de la fracción insoluble pero potencialmente degradable (Noguera et al., 2006). Sin embargo, esto no siempre es cierto ya que Dijkstra et al. (2002) mencionan que el material soluble puede no ser metabolizado rápidamente por lo microorganismos del rumen porque la suplementación con alimentos concentrados podría exceder la máxima capacidad de los microorganismos para usar todos estos sustratos inmediatamente, por lo tanto el inicio de degradación de la fracción insoluble podría tomar un tiempo más largo y el valor de *lag* sería también mayor. En el caso de los tratamientos y periodos el tiempo lag es similar (P>0.05).

Metabolitos secundarios

En el caso de los taninos no fenólicos las especies de arvenses con los mayores contenidos fueron Oxalis divergens, Cosmos bipinnatus, Bidens odorata y Bidens anthemoides (Cuadro 5). Se observaron diferencias (P<0.05) en el contenido de taninos no para Oxalis diverges fenólicos Simsia amplexicaulis con respecto al resto de especies. Sin embargo, los metabolitos secundarios de mayor importancia son los taninos fenólicos va que éstos contienen tanto taninos condensados hidrosolubles, que pueden provocar efectos negativos importantes en el animal, como intoxicación, afectan negativamente la fermentación ruminal y en grandes cantidades pueden causar la muerte (Reed *et al.*, 2000). No obstante, éstos compuestos pueden tener un efecto benéfico pues los taninos condensados tienen la capacidad de ligarse a la proteína del alimento para que pueda ser digerida en el intestino evitando así su desnaturalización en el rumen. Por otro lado, Makkar (2003) menciona que valores superiores al 4.5% y 2% en fenoles y taninos fenólicos en forrajes tropicales, respectivamente, no producen efectos negativos significativos en los rumiantes. Como se muestra en el

Cuadro 5, las especies que superan el 4.5% de fenoles que menciona Makkar (2003) son *Bidens odorata*, *Bidens anthemoides*, *Cosmos bipinnatus*, *Echinochloa oplismenoides*, *Tridax coronopifolia*. Sin embargo, su contenido de fenoles y taninos no es tan alto como para afectar el funcionamiento ruminal como se muestra en el Cuadro 6, en donde se aprecia que no existe un efecto significativo entre el contenido de fenoles totales y taninos fenólicos sobre los parámetros de la cinética de fermentación, dMS y dFDN.

Cuadro2. Composición química (g /kg MS) por especie, tratamientos (Arvenses: rastrojo de maíz) y periodos experimentales.

Especie	PC	FDN	FDA	dMS	dFDN
B. odorata	42.20°	581.20°	388.40^{b}	594.20 ^b	$470.00^{\rm e}$
B. anthemoides	70.39^{b}	596.10 ^c	401.10^{b}	548.40^{b}	$390.50^{\rm e}$
C. bipinnatus	73.85 ^b	634.40^{b}	422.80^{a}	542.50^{b}	$427.80^{\rm e}$
D. laxiflora	86.52^{ab}	607.10^{cb}	361.00^{c}	548.90^{b}	$349.50^{\rm ef}$
E. oplismenoides	60.10^{b}	673.70^{a}	403.70^{ab}	613.00^{ab}	552.70 ^{ce}
T. coronopifolia	74.97^{b}	586.10^{c}	390.10^{b}	557.80^{b}	388.00^{ef}
T. tubiformis	68.30^{b}	609.60^{cb}	399.60^{b}	560.90^{b}	525.20^{de}
O. divergens	99.12 ^a	565.50^{cd}	360.30°	576.00^{b}	652.10^{a}
T. purpuracens	73.06^{b}	549.00^{ce}	334.70^{d}	633.40^{ab}	581.30 ^{abe}
S. amplexicaulis	69.41 ^b	580.20°	384.10^{b}	566.10^{b}	$452.80^{\rm e}$
EEM	3.9	9.3	5.6	18.5	24.9
p<	***	***	***	***	***
Tratamientos					
100/0	98.11 ^a	499.30 ^e	341.00^{e}	587.30	432.70°
80/20	83.30 ^b	550.80^{d}	363.90^{d}	582.20	464.40 ^c
60/40	71.01 ^c	597.10 ^c	383.60°	580.80	466.70°
40/60	58.69 ^d	644.50^{b}	405.60^{b}	569.60	502.40^{bc}
20/80	47.82^{e}	699.80^{a}	428.70^{a}	550.60	528.70^{ab}
EEM	5.5	13.1	8.0	26.2	35.3
p<	***	***	***	NS	***
Periodos					
1	83.75 ^a	591.00^{b}	377.70^{c}	579.70^{b}	474.80^{a}
2	66.72 ^b	595.20^{b}	389.50^{b}	557.30 ^b	501.70 ^a
3	64.90^{b}	608.70^{ab}	386.60^{ab}	585.40^{ab}	460.50^{ab}
EEM	7.2	17.0	10.3	33.8	45.6
p<	***	**	**	**	**
Periodos*Especie	***	**	***	**	***
Especie*Tratamiento	NS	**	***	NS	**

abcdef Diferentes letras en una misma columna indican diferencias significativas (p<0.05)

PC: Proteína cruda, FDN: Fibra Detergente Neutro, FDA: Fibra Detergente Ácido, dMS: Digestibilidad de la materia seca, dFND: Digestibilidad de la Fibra Detergente Neutro, EE: Error Estándar de la Media. NS, No significativo; * (p<0.05); ** (p<0.01); *** (p<0.001).

Cuadro 3. Parámetros de cinética de fermentación de producción de gas *in vitro* por especie, tratamientos (Arvenses: rastrojo de maíz) y periodos.

Especie	а	ca	b	cb	Lag
B. odorata	24.35 ^d	0.0487	235.70 ^d	0.0248 ^e	6.45 ^e
B. anthemoides	53.99 ^d	0.0463	171.20^{de}	0.0272^{e}	7.99^{e}
C. bipinnatus	$17.10^{\rm e}$	0.0573	195.20 ^d	0.0313^{e}	8.51 ^e
D. laxiflora	48.182^{d}	0.0620	177.50^{d}	0.0216^{e}	9.14 ^e
E. oplismenoides	44.97^{d}	0.0498	241.60^{d}	$0.0207^{\rm e}$	9.05 ^e
T. coronopifolia	64.92 ^d	0.1070	$147.70^{\rm e}$	0.0446^{de}	9.42^{e}
T. tubiformis	18.56 ^e	0.0611	189.80^{d}	0.0301^{d}	$7.25^{\rm e}$
O. divergens	35.29^{d}	0.0481	203.50^{d}	0.0441^{de}	$7.62^{\rm e}$
T. purpuracens	51.29 ^d	0.0542	201.20^{d}	0.0452^{de}	12.84^{de}
S. amplexicaulis	28.48^{d}	0.0880	223.70^{d}	0.0254^{e}	7.62^{d}
EEM	12.7	0.028	23.9	0.0039	1.4
p<	**	NS	**	***	**
Tratamientos					
100/0	50.54 ^d	0.0539	$141.70^{\rm e}$	0.0418^{d}	8.14
80/20	50.87^{d}	0.0497	$174.0^{\rm e}$	0.0317^{e}	7.89
60/40	45.04^{d}	0.0551	$190.80^{\rm e}$	0.0318^{de}	8.41
40/60	30.51 ^d	0.0772	230.90^{de}	$0.0262^{\rm ef}$	8.94
20/80	16.6 ^e	0.0819	256.60^{d}	$0.0260^{\rm ef}$	9.56
EEM	18.0	0.040	33.8	0.005	2.0
p<	***	NS	***	***	NS
Periodos					
1	$30.13^{\rm e}$	0.0657	217.10^{d}	0.0261^{e}	8.85
2	35.18 ^e	0.0664	220.80^{d}	$0.0270^{\rm e}$	7.84
3	50.83^{d}	0.0546	158.50 ^e	0.0415^{d}	9.08
EEM	23.2	0.052	43.7	0.0071	2.6
p<	**	NS	***	***	NS
Periodos*Especie	**	NS	***	***	**
Especie*Tratamiento	NS	NS	NS	**	NS

def Diferentes letras en una misma columna indican diferencias significativas (p<0.05)

Los porcentajes de fenoles totales encontrados en este estudio son superiores a los citados por Gutiérrez et al. (2008) en las especies Cosmos bipinnatus, Oxalis divergens, Tithonia tubiformis y Simsia amplexicaulis, las cuales son consideradas de buena calidad para el mantenimiento del ganado, sin afectar productividad y el nivel superior de estos componentes fenólicos en estas especies pueden representar una fuente natural de antioxidantes Por otro lado, la mayor parte de los estudios sobre metabolitos secundarios están enfocados a especies de climas tropicales o subtropicales, es importante marcar que las especies del presente estudio son arvenses de valles altos y que existe poca información en cuanto al contenido de estos parámetros. No obstante, Makkar (2003) realizó un estudio de diversas especies de malezas en las cuales se observaron bajos niveles de taninos fenólicos, específicamente estos van de 0.4 -

3.8%; para este caso especies como *Drymaria laxiflora*, *Tithonia tubiformis*, *Oxalis divergens*, *Tripogandra purpuracens* y *Simsia amplexicaulis* son las que tienen valores que se encuentran en los rangos descritos por este autor y en el que concluye que valores bajos de taninos pueden ser benéficos para los rumiantes, ya que los taninos protegen la proteína de la dieta de la degradación del rumen, y por lo tanto incrementan la proteína de baja degradación en el rumen, por lo que se destaca una mayor suplementación de aminoácidos de origen alimenticio a nivel post ruminal en el animal, y una mayor absorción de estos como proteína digestible en el intestino delgado (Makkar *et al.*, 1995; Makkar *et al.*, 1997).

NS, No significativo; * (p<0.05); ** (P<0.01); *** (p<0.001).

a: Producción de gas a las 4 horas de fermentación (ml gas/ g MS), ca: Tasa de fermentación de la fracción a, b: Producción potencial de gas (ml gas/ g MS) a partir de la fracción insoluble pero potencialmente degradable, cb: Tasa de fermentación de la fracción b, lag: tiempo en horas antes de iniciar la fermentación de la FDN, EEM: Error Estándar de la Media.

Cuadro 4. Composición química, digestibilidad de la MS (dMS), digestibilidad de la FDN (dFDN) del rastrojo de maíz en g /kg MS y parámetros de fermentación ruminal mediante la técnica de producción de gas *in vitro*

Variable	Media	EEM					
PC	60.8	1.8					
FDN	661	29.8					
FDA	382	6.1					
d MS	539.6	47.6					
d FDN	276	36.9					
Parámetros de fermentación ruminal							
a	45.8	2.9					
ca	0.0561	0.02					
b	211.4	49.3					
cb	0.0262	0.006					
lag	14	5.3					

PC: proteína cruda, FDN Fibra detergente neutro, FDA: Fibra detergente ácido, a: Producción de gas a las 4 horas de fermentación (ml gas/ g MS), ca: Tasa de fermentación de la fracción a, b: Producción potencial de gas (ml gas/g MS) a partir de la fracción insoluble pero potencialmente degradable, cb: Tasa de fermentación de la fracción b, lag: tiempo en horas antes de iniciar la fermentación de la FDN, EEM: Error Estándar de la Media.

Cuadro 5. Contenido de fenoles totales (%), taninos fenólicos (%) y taninos no fenólicos (%) de las arvenses.

Especie	Fenoles	Taninos	Taninos
	totales	fenólicos	no fenólicos
B. odorata	5.02	4.77	0.25^{ab}
B. anthemoides	7.75	7.50	0.24^{ab}
C. bipinnatus	7.04	6.77	0.26^{ab}
D. laxiflora	2.89	2.27	0.16^{ab}
E. oplismenoides	5.92	5.72	0.16^{ab}
T. coronopifolia	8.60	8.42	0.18^{ab}
T. tubiformis	3.59	3.32	0.26^{ab}
O. divergens	3.61	3.31	0.29^{a}
T. purpuracens	2.24	2.07	0.16^{ab}
S. amplexicaulis	1.70	1.56	0.13^{b}
EEM	1.30	1.30	0.02
<i>p</i> <	NS	NS	*

^{ab} * (p<0.05); NS, No significativo; EEM, Error estándar de la Media.

Cuadro 6. Correlaciones entre las variables de cinética de fermentación, dMS, dFDN y metabolitos secundarios

	а	ca	b	cb	lag	dMS	dFDN	Fenoles totales	Taninos Fenólicos
ca	0.293								
	0.412								
b	-0.511	-0.437							
	0.131	0.207							
cb	0.308	0.254	-0.431						
	0.386	0.478	0.214						
lag	0.567	0.084	-0.221	0.469					
	0.087	0.818	0.539	0.171					
dMS	0.15	-0.298	0.584	0.191	0.503				
	0.68	0.403	0.076	0.597	0.138				
dFDN	-0.227	-0.415	0.502	0.407	0.127	0.657			
	0.528	0.233	0.139	0.243	0.728	0.039			
Fenoles Totales	0.311	0.127	-0.416	0.059	-0.128	-0.344	-0.399		
	0.382	0.726	0.231	0.872	0.724	0.33	0.253		
Taninos Fenólicos	0.306	0.139	-0.397	0.076	-0.122	-0.375	-0.375	0.999	
	0.39	0.703	0.256	0.834	0.737	0.370	0.286	0.000	
Taninos no fenólicos	-0.465	-0.477	-0.084	0.0198	-0.517	-0.298	0.266	0.291	0.248
	0.176	0.163	0.816	0.583	0.126	0.404	0.457	0.415	0.428

a: Producción de gas a las 4 horas de fermentación (ml gas/ g MS), ca: Tasa de fermentación de la fracción a, b: Producción potencial de gas (ml gas/g MS) a partir de la fracción insoluble pero potencialmente degradable, cb: Tasa de fermentación de la fracción b, lag: tiempo en horas antes de iniciar la fermentación de la FDN

CONCLUSIONES

La composición química de las arvenses muestra que son una fuente de proteína para los rumiantes, siendo Oxalis divergens la que presenta un mayor contenido de PC y digestibilidad de la FDN, además de que es la especie más abundante en los terrenos de cultivo, por lo que es posible concluir que la inclusión de arvenses en una dieta cuyo forraje basal es el rastrojo de maíz la inclusión de arvenses resulta en un mayor aporte de proteína cruda a la dieta y en una mayor digestibilidad. Finalmente, la presencia de metabolitos secundarios en las concentraciones encontradas en este estudio, no tiene un efecto directo sobre la fermentación ruminal, por lo que pueden ser utilizadas como alimento para el ganado bovino. Un mayor nivel de inclusión de las arvenses sobre el rastrojo de maíz incrementa el aporte de PC y mejora la cinética de fermentación ruminal.

AGRADECIMIENTOS

A los colaboradores de este trabajo y a la Universidad Autónoma del Estado de México por el apoyo financiero otorgado por medio del proyecto 2422/2007U para el desarrollo de este estudio. Así también se agradece la participación de los productores cooperantes.

REFERENCIAS

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th Ed Association of official Agricultural Chemists, Washington.
- Castelán, O., Estrada, J., Carretero, L., Vieyra A., Martínez, N., Cárdenas S., Arriaga, C. 2003b. Degradation characteristics of maize land races stover used as forage in smallholder maize-livestock production systems of central México, in different growing periods. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 3:121-126.
- Castelán, O., Estrada J., Carretero, L., Vieyra A., Martínez, N., Cárdenas, S., Arriaga, C., Mould, F. 2003a. Degradation characteristics of maize weeds, used as forage in smallholder maize-livestock production systems of central México, in different growing periods. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 3: 115-119.
- Castelán-Ortega, O. A. 1999. A decision support system for campesino maize-cattle production systems of the Toluca Valley in Centro Mexico. A thesis submitted for the degree of

- doctor of philosophy. Institute of Ecology and Resource Management. University of Edinburgh.
- Castelán, O., Mathewman, O.R. W., Fawcett, R., Smith, A., González, M. E., Burgos, G. R., de la Cruz, D. J. 1997. Caracterización y evaluación de los sistemas campesinos de producción de leche, el caso de dos comunidades del Valle de Toluca. En: Investigación para el desarrollo rural. Diez años de experiencia del CICA. Centro de Investigación en Ciencias Agropecuarias X aniversario. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Dijkstra, J., Mills, J. A. N., France, J. 2002. The role of dynamic modeling in understanding the microbial contribution to rumen function. Nutrition Research Review, 15:67-90.
- Estrada-Flores, J.G. 2005. Caracterización nutricional de maíz y arvenses utilizados en la alimentación del ganado en sistemas campesinos en dos zonas contrastantes del Estado de México. Tesis Doctoral en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad Autónoma del Estado de México, pp 3-4.
- Estrada-Flores, J. G., González-Ronquillo, M., Mould, F., Arriaga-Jordán C. M., Castelán-Ortega, O. A. 2006. Chemical composition and fermentation characteristics of grain and different parts of the stover from maize land races harvested at different growing periods in two zones of Central Mexico. Animal Science, 82:1-9.
- Fisher, D., Burns J.C. y Moore, J. E. 1995. The nutritive evaluation of Forage. En: Barnes, R. F., Miller, D.A. y Nelson, C. J. Forage. Vol. I An Introduction to Grassland Agriculture. Ed. IOWA. State University Press Ames. USA.
- García, S. M., Cañizares, A., Salcedo, F., Guillen, L. 2000. Un aporte a la determinación del periodo crítico de interferencia de malezas en cafetales del estado Monagas. Bioagro, 12(3): 63-70.
- Getachew, G., Robinson, P. H., DePeters, E. J. and Taylor, S. J. 2004. Relationships between chemical composition, dry matter fermentation and in vitro gas production of several ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology 111: 57-71.

- Grafit. 1992. Version 3. Data Analysis and Graphics Program. Erithacus Software Ltd.
- Gutiérrez, D., Mendoza, S., Serrano, V., Bah, M., Pelz, R., Balderas, P., León, F. 2008. Proximate composition, mineral content, and antioxidant properties of 14 Mexican weeds used as fodder, Weed Biology and Management, 8:291-296.
- Jessop, N. S., Herrero, M. 1996. Influence of soluble components on parameter estimation using the *in vitro* gas production technique. Animal Science, 62:626-627.
- López, S., Dijkstra, J., France, J. 2000. Prediction of Energy Supply in Ruminants, with Emphasis on Forages, In:Givens, D. I., Owen, E., Axford, R. F. E., Omed, H. M. (eds.). Forages Evaluation in Ruminant Nutrition. CAB International, Uk. pp. 63-94.
- Makkar, H. P. S. 2003. Chemical, protein precipitation and bioassays for tannins, tannin levels and activity in unconventional feeds, and effects and fate of tannins. Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage. Kluwer Academis Publischers, Netherlands. pp. 1-42.
- Makkar, H. P. S., Blümmel, M., Becker, K. 1995. *In vitro* effects an interactions of tannis and saponins and fate of tannin in rumen. Journal Science Food Agriculture, 69: 481-493.
- Makkar, H. P. S., Blümmel, M., Becker, K. 1997. Aplication of an *in vitro* gas method to understand the effects of natural plant products on availability and partitioning of nutrients. BSAP. Occasional Meeting on "In vitro techniques for measuring nutrient supply to ruminants". 8-10 July. Reading U.K.
- Martínez, A. G., Vicencio, C. M. 1998. Espacio físico. Almoloya de Juárez Monografía Municipal. Instituto Mexiquense de Cultura, México. pp. 19-26.
- Mauricio, M., Mould, F., Dhanoa, L., Owen, E., Kulwuant, S. C., Theodorou, M. 1999. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. Animal Feed Science and Technology, 79: 321-330.
- McSweeney, C.S., Palmer, B., McNeill, B.M. Krause, D.O. 2001. Microbial interaction weed tannins nutritional consequences for

- ruminants. Animal Feed Science and Technology, 91: 83-93.
- Medina, G. M., García, E. D., González, E.M, Cova, J. L., Moratinos, P. 2009. Variables morfoestructutales y de calidad de la biomasa de *Tithonia diversifolia* en la etapa inicial de crecimiento, Zootecnica tropical, 2: 121-134.
- Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz D., Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubed with rumen liquor in vitro. Journal Agricultural. Science Cambridge 93: 217-222.
- Minitab Version 14. 2000. Statistical software. User's guide 1: Data graphics, and macros. USA.
- Niderkorn, V., Baumont, R. 2009. Associative effects between forages on feed intake and digestion in ruminants, Animal, 3:951-950.
- Noguera, R. R., Ramírez, C. I., Bolivar, M. D. 2006. Efecto de la inclusión de papa (*Solanum tuberosum*) en la cinética de fermentación *in vitro* del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). Livestock Research for rural Development, 18:1-13.
- Oba, M., Allen, M. S. 2003. Effects of diet fermentability on efficiency of microbial nitrogen production in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 86:195-207.
- Pell, A. N., Schofield, P. 1993. Computerised monitoring of gas production to mesure forage digestion *in vitro*. Journal Dairy Science. 76:1063-1073
- Pinto, R., Ramírez, L., Kú-Vera, J. C. Ortega, L. 2002. Especies arbóreas y herbáceas forrajeras del sureste de México. Pastos y Forrajes, 25: 171-180.
- Puchala, R., Min, B.R., Goetsch, A.L., Saul, T. 2004. The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. Journal of Animal Science, 83:182-186.
- Reed, J. D., Krueger, C., Rodríguez, G., Hanson, J. 2000. Secondary plant compounds and forage evaluation. In: Givens D. I., Owen E., Axford R. F. E., Omed H. M. (eds.). Forage Evaluation in Ruminant Nutrition.CAB International, Uk. pp 433-448.

- Steel, R. G. D., Torrie, H. 1997. Bioestadística: Principios y procedimientos. 2da edición. McGraw-Hill, Mexico, 539 p.
- Tas, B.M., Tameel, H. Z., Smit, H. J., Elgerma, A., Dijkstra, J., Tamminga, S. 2006. Rumen degradation characteristics of perennial ryegrass cultivars during the growing season. Journal Animal Science, 131:102-119.
- Tolera, A. y Sundstøl, F. 1999. Morphological fractions of maize stover harvested at different stages of grain maturity and nutritive value of different fractions of the stover. Animal Feed Science and Technology 81: 1-16.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. 1991.

 Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583-3597.
- Villa, C. I., Castelán, O. A. O., Arriaga, J. C. 1998. La diversidad de la producción agrícola y su relación con su desarrollo de los sistemas campesinos de producción de leche en Tenango del Valle, Estado de México, Seminario Mesoamericano Agrodiversidad en la Agricultura Campesina. Centro de Investigación en Ciencias Facultad de Agropecuarias. Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México, 28 al 30 de abril, pp. 107-11.
- We-Lian, H., Jian-Xin,L., Jun-An, Y., Yue-Min, W., Yan-Oiu, G. 2005. Effect of tea saponnin on rumen fermentation *in vitro*. Animal Feed Science and Technology, 120: 333-339.

Submitted January 26, 2010 – Accepted May 24, 2010 Revised received January 26, 2011