UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

"INFLUENCIA DE EXTRACTOS VEGETALES Y ACEITE DE SACHA INCHI SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO*."

Trabajo de investigación previo a la obtención del grado de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

AUTOR:

Angel Daniel Agualongo Chango

TUTOR:

Ing. Marcos A. Barros Rodríguez, Ph.D

Ambato-Tunguragua-Ecuador-2018

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo ANGEL DANIEL AGUALONGO CHANGO, portador de la cédula de identidad número: 1804505327 - 7, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de Investigación titulado: **"INFLUENCIA DE EXTRACTOS VEGETALES Y ACEITE DE SACHA INCHI SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO*"** es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas".

_____

Angel Daniel Agualongo Chango

C.I.: 180450532- 4

DERECHOS DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado: **"INFLUENCIA DE EXTRACTOS VEGETALES Y ACEITE DE SACHA INCHI SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO*"** como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario y Zootecnista, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él".

_____

Angel Daniel Agualongo Chango

C.I.: 180450532- 7

" INFLUENCIA DE EXTRACTOS VEGETALES Y ACEITE DE SACHA INCHI SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO"*

REVISADO POR:

Mg. Marcos A. Barros Rodríguez, Ph.D
TUTOR

Ing. Ricardo Guerrero

ASESOR DE BIOMETRIA

Mg. Diana Aviles, Ph.D

ASESOR DE REDACCIÓN TÉCNICA

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por guiar mi camino, a mi familia quienes a través de su apoyo hicieron posible que culmine esta etapa y a cada una de las personas que durante mi etapa estudiantil impartieron sus conocimientos para que cada día pudiera llegar a formarme como profesional.

De igual manera agradezco al Dr. Marcos Barros por la perseverancia, exigencia y apoyo ante la presente investigación, de igual manera a la asesora y biometrista de tesis quienes me orientaron para la culminación de la presente Tesis.

A mis amigos y personas que durante mi vida en la universidad me brindaron su amistad y de forma directa o indirectamente ayudaron en la culminación de esta tesis.

DEDICATORIA

La presente tesis está dedicada a mis padres Angel E. Agualongo y Anita E. Chango quienes con su esfuerzo, trabajo diario y apoyo incondicional han sido un pilar importa durante toda mi vida, alentándome a seguir constantemente, enfrentándome ante cada obstáculo que se presente para conseguir cada una de mis metas y objetivos de vida, además agradezco a mis hermanos Cristina S. Agualongo, Juan C. Agualongo, Diana A. Agualongo, Karina A. Agualongo y Cristian J. chango por su apoyo y palabras de aliento.

A cada una de las personas que hicieron posible que pudiera llegar a finalizar esta etapa para iniciar con las siguientes en mi labor profesional.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I 1
INTRODUCCIÓN 1
CAPÍTULO II 3
MARCO TEÓRICO O REVISIÓN DE LITERATURA 3
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS 3
2.2. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES O MARCO CONCEPTUAL 6
2.2.1. Extractos vegetales 6
2.2.2. Uso de vegetales para reducir el metano 7
2.2.3. Compuestos secundarios 12
2.2.4. Fermentación ruminal 14
2.2.5. Microorganismos que actúan en la metanogénesis. 15
2.2.6. Degradación de los carbohidratos 16
2.2.7. Degradación de la proteína. 17
2.2.8. Producción de metano en la ganadería 18
CAPÍTULO III 19
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS 19
3.1. HIPÓTESIS 19
3.2. OBJETIVOS 19
3.2.1. Objetivo general 19
3.2.2. Objetivos específicos 19
CAPÍTULO IV 20
MATERIALES Y MÉTODOS 20
4.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO 20
4.2. CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR 20
4.3. EQUIPOS Y MATERIALES 20
4.3.1. Equipos 20
4.3.2. Materiales 21
4.3.3. REACTIVOS 22
4.4. FACTORES EN ESTUDIO 22
4.5. TRATAMIENTOS 23
4.6. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICOS. 24

4.7. METODOLÓGIA DE LA INVESTIGACIÓN Y VARIABLE RESPUESTA 24
4.7.1. Producción de gas *in vitro* 26
4.7.2. Producción de metano y CO_2 *in vitro* 26
4.7.3. Digestibilidad *in vitro* 26
4.7.4. pH ruminal 27
4.8. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN 27
CAPÍTULO V 28
5.1. RESULTADOS 28
5.1.1. Producción de gas, metano y CO2 in vitro 28
5.1.2. pH y Digestibilidad in vitro de la MS y MO 29
5.2. DISCUSIÓN 32
5.2.1. Producción de gas, metano y CO2 in vitro. 32
5.2.2. Digestibilidad de nutrientes in vitro y pH 32
CAPÍTULO VI 34
6.1. CONCLUSIONES 34
6.2. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. 34
6.3. ANEXOS 44
CAPÍTULO VII 46
PROPUESTA 46
7.1. DATOS INFORMATIVOS 46
7.2. ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA 46
7.3. JUSTIFICACIÓN 46
7.4. OBJETIVOS 47
7.4.1. Objetivo general 47
7.4.2. Objetivos específicos 47
7.5. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD 48
7.6. FUNDAMENTACIÓN 48
7.7. METODOLOGÍA 48
7.8. ADMINISTRACIÓN 48
7.9. PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN 48

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LAS ACACIAS 8
TABLA 2. COMPUESTOS ANTINUTRICIONALES DE LAS ACACIAS 9
TABLA 3. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ACEITE DE SACHA INCHI. 10
TABLA 4. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MUCILAGO DE CACAO 12
TABLA 5. CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR 20
TABLA 6. DISTRIBUCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS 23
TABLA 7. DIETA EXPERIMENTAL 24
TABLA 8. PARÁMETROS IN VITRO DE PRODUCCIÓN DE GAS, CH4 Y CO2 (ml/0.5g MSF) COMO EFECTO DE LA ADICIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES Y ACEITE DE SACHA INCHI EN UNA DIETA PARA RUMIANTES. 30
TABLA 9. DIGESTIBILIDAD DE NUTRIENTES IN VITRO Y PH. 31

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. PREPARACIÓN DE EXTRACTOS 34
ANEXO 2. PREPARACIÓN DE SALIVA ARTIFICIAL 44
ANEXO 3. EXTRACCIÓN DE LÍQUIDO RUMINAL 45
ANEXO 4. PRODUCCIÓN DE GAS 45

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la adición de extractos vegetales y aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) sobre la fermentación ruminal *in vitro,* para disminuir la emisión de gases de efecto invernadero. El experimento se realizó mediante un diseño completamente al azar, con veinte y dos tratamientos: *Albizia lophanta* (AL), *Acacia hayesii* (AH), *Acacia melanoxylon* (AM), baba de *Teobroma cacao* (BC), aceite de Sacha inchi (ASI), mezcla de extractos vegetales (MSA) y mezcla de extractos vegetales con aceite de Sacha inchi (MCA) a dosis de 0, 1, 3, 5 µl/0,5g MS. Se determinó la producción de gas total, metano, CO_2, digestibilidad *in vitro*, pH y Ácidos Grasos Volátiles (AGVs). La fermentación *in vitro* se realizó en el laboratorio con 132 botellas de 100 ml (6 botellas por tratamiento incluido el tratamiento control). La producción de gas se realizó mediante la técnica descrita por Theodorou et al. (1994), la cual consiste en colocar 0.500 mg de MS de muestra en botellas de vidrio con capacidad de 100 ml. En las botellas se incubo 60 ml del inóculo (70:30; saliva artificial: contenido ruminal) a 39.5 ºC en una estufa. La medición de la presión de gas y el volumen se midió manualmente a los siguientes tiempos 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72, 96 horas. Para la digestibilidad *in vitro* se utilizó el mismo procedimiento antes mencionado, pero solo se incubó hasta las 48 horas, el pH y los AGVs fueron incubados hasta las 24 horas. Con respecto a la producción total de gas y producción de gas metano las dietas con AL 1% y ASI 1% presentaron los menores resultados (P<.0001) en la producción total de gas 506.28 y 538.87 ml/0.5g MS (Vfi) respectivamente, en la producción de gas metano 54.908 y 51.312 ml/0.5 g MS respectivamente, mientras que en la producción de CO_2 se obtuvo el menor valor únicamente para AL 1% (160.45 ml/0.5g MS). La digestibilidad *in vitro* de la MS y MO mostró diferencias (P<.0001) entre tratamientos, observándose una mayor digestibilidad en ASI 1% (514. 27 g/Kg MS y 505.83 g/Kg MO). El pH muestra diferencia (P<.0001) entre los tratamientos presentando el valor más óptimo ASI 1% (6.95 – 6.99). En conclusión, la adición de aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) 1% y extracto de *Albizia lophanta* 1%, mejora la digestibilidad, estabiliza el pH y reduce la emisión de gases de efecto invernadero.

Palabras claves: *Albizia lophanta, plukenetia volubilis*, digestibilidad, metano, CO_2, AGVs.

SUMMARY

The objective of the present investigation was to evaluate the effect of the addition of vegetable extracts and oil of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) on *in vitro* ruminal fermentation, to reduce the emission of greenhouse gases, according to a completely randomized design, with twenty-two treatments: *Albizia lophanta* (AL), *Acacia hayesii* (AH), *Acacia melanoxylon* (AM), Baba de *Teobroma cacao* (BC), Sacha inchi oil (ASI), a mixture of plant extracts (MSA) and a mixture of vegetable extracts with Sacha inchi oil (MCA) at doses of 0, 1, 3, 5 µl / 0.5g MS. The production of total gas, methane, CO2, in vitro digestibility, pH and Volatile Fatty Acids (VFAs) was determined. The in vitro fermentation was carried out in the laboratory with 132 bottles of 100 ml (6 bottles per treatment including the control treatment). Gas production was performed by the technique described by Theodorou et al. (1994), which consists in placing 0.500 mg of MS of sample in glass bottles with a capacity of 100 ml. In the bottles, 60 ml of inoculum (70:30, artificial saliva: ruminal content) was incubated at 39.5 ºC in an oven. The measurement of gas pressure and volume was measured manually at the following times 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72, 96 hours. For in vitro digestibility, the same procedure was used, but it was only incubated until 48 hours, the pH and the AGVs were incubated until 24 hours. With respect to total gas production and production of methane gas, the diets with AL 1% and ASI 1% showed the lowest results (P <.0001) in the total production of gas 506.28 and 538.87 ml / 0.5g MS (Vfi) respectively, in the production of methane gas 54,908 and 51,312 ml / 0.5 g MS respectively, while in the production of CO2 the lowest value was obtained only for AL 1% (160.45 ml / 0.5g MS). The in vitro digestibility of DM and MO showed differences (P = 0001) between treatments, with greater digestibility observed in ASI 1% (514. 27 g / Kg MS and 505.83 g / Kg MO). The pH shows difference (P = 0001) among the treatments presenting the most optimal value ASI 1% (6.95 - 6.99). In conclusion, the addition of oil of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) 1% and extract of *Albizia lophanta* 1%, improves the digestibility, stabilizes the pH and reduces the emission of greenhouse gases.

Key words: *Albizia lophanta, plukenetia volubilis,* digestibility, methane, CO2, AGVs.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Los rumiantes proporcionan condiciones ambientales óptimas a los microorganismos del rumen para la fermentación de los alimentos, estos degradan nutrientes para producir ácidos grasos volátiles y sintetizar proteína microbiana como suministro de energía y proteína para el animal como lo mencionan Calsamiglia, Busquet, Cardozo y Castillejos (2007). Sin embargo, en este proceso de fermentación ruminal hay ineficiencias de energía (pérdidas de metano) y proteína (pérdidas de amoniaco) que pueden limitar el rendimiento de producción y contribuir a la liberación de gases contaminantes al medio ambiente (Ávila, Kozloski, Orlandi y Mezzomo, 2015). El sector ganadero aporta alrededor del 18% del total de las emisiones de metano. Las ovejas y las cabras producen de 10 a 16 kg de CH_4 al año mientras que el ganado bovino produce de 60 a 160 kg de CH_4 al año. (Nolan, Hegarty, Godwin y Woodgate, 2010).

Calsamiglia et al. (2010) manifiestan que en la última década se han interesado en evaluar alternativas para controlar la población microbiana y modular la fermentación ruminal mediante el uso de ácidos orgánicos, extractos de plantas, probióticos entre otros. Así también Kim et al. (2012) señalan que los extractos de las plantas contienen compuestos secundarios como taninos, saponinas y aceites esenciales que pueden modificar la fermentación ruminal sin dejar residuos, siendo una alternativa para disminuir las emisiones entéricas de metano y mejorar el metabolismo en los rumiantes (Naumann *et al*., 2013).

Goel et al. (2015) indican que los taninos son compuestos flavonoides solubles en agua que se encuentran en los tejidos de vegetales como las acacias que son leguminosas de países tropicales con un alto contenido de taninos y pueden ser utilizados en la alimentación. Por otra parte, Wischer et al. (2013) señalan que los taninos forma complejos con carbohidratos, proteínas e incluso con enzimas, lo que provoca una

reducción en la biodegradación ruminal. Sin embargo, los rumiantes han desarrollado un mecanismo de adaptación contra taninos a través de un ecosistema microbiano que habita en el tracto gastrointestinal dando un efecto positivo sobre la energía y la utilización de la proteína en el rumen (Hassanat y Benchaar, 2013).

Otra alternativa para modificar la fermentación microbiana ruminal es el uso de aceites esenciales (Alicia *et al*., 2014). Actualmente, se han interesado en evaluar la actividad de los aceites esenciales sobre las bacterias ruminales (Calsamiglia *et al*., 2007). Los aceites esenciales pueden interactuar con las membranas de células microbianas e inhibir el crecimiento de algunas bacterias gram positivas y gram negativas interfiriendo en la génesis de metano (Lee *et al*., 2003). Una de las plantas con alto contenido en aceites esenciales es el Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*), pueden llegar a tener hasta 41,4% de aceite. Además, tiene un alto contenido de proteína de 24 a 29% más vitamina A y E (Gutiérrez, Rosada y Jiménez, 2011). En base a estos antecedentes, el objetivo de este estudio fue evaluar la influencia de extractos vegetales y aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) sobre la fermentación ruminal *in vitro* para disminuir la emisión de gases de efecto invernadero.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA O MARCO TEÓRICO

2.1.ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Wischer et al. (2013) evaluaron el efecto de los taninos de *Acacia mearnsii* y monensina sobre la fermentación ruminal en el ganado bovino. Para el experimento utilizaron seis vacas canuladas, monensina 300 mg/animal/día y un extracto rico en tanino de *Acacia mearnsii* 100 mg animal/día. El tratamiento con monensina redujo el metano en 10.7%, mientras que la inclusión de tanino redujo en un 8.0%. Por lo tanto, el uso de monensina y taninos en las dietas ha mostrado ser una opción viable para mejorar la eficiencia energética y disminuir el metano entérico. Así también, Cortés et al. (2009) indicaron que la inclusión en la dieta de taninos de *Acacia mearnsii* hasta un nivel de 18 g/kg de materia seca disminuye el nitrógeno que es excretado en la orina y mejora el suministro de aminoácidos en novillos alimentados con forraje de avena fresca más concentrados sin afectar significativamente la digestibilidad. Hess et al. (2008) concluyeron que los taninos extraídos de *Acacia lebbekoides* y *Acacia cornigera* podrían utilizarse para proteger la degradación ruminal de proteínas de alto valor biológico como los de la harina de soya.

Ávila et al. (2015) evaluaron el efecto del extracto de *Acacia mearnsii* a dosis 15 g/kg de materia seca (MS) y 50 g/kg de MS en novillos alimentados con ensilado de maíz y concentrado que contiene harina de soja o harina de canola como fuente de proteínas. Los autores concluyen que la inclusión en la dieta de 15 g / kg de MS de extracto de tanino de *A. mearnsii* mejora el suministro de aminoácidos, independientemente de si la fuente de proteína fue de harina de canola o harina de soja, sin afectar al perfil de aminoácidos para novillos alimentados con ensilado de maíz más concentrado, con un impacto menor pero significativa en digestibilidad. Hassanat y Benchaar (2013) examinaron el impacto de diferentes fuentes y concentraciones (20, 50, 100, 150 y 200 g /kg materia seca) de taninos condensados (acacia y quebracho) e hidrolizables (castaña y valonea) *in vitro*. El experimento también incluyó un control negativo sin

taninos (control) y un control positivo con monensina. Los resultados que se obtuvieron *in vitro* fueron, la producción de gas y la concentración de ácidos grasos volátiles totales (VFA) disminuyeron a medida que la concentración de tanino aumentó. Además, los taninos de Acacia, castaño y valonea ≥50 g/kg y taninos de quebracho en ≥100 g/kg disminuye hasta 40% en la producción de CH_4 en comparación con el control. En conclusión, el suministro de taninos de acacia, castaño y valonea en 50 g/kg tiene el potencial de reducir la producción de CH_4. Así también Kozloski et al. (2012) Evaluaron los efectos del extracto de tanino de *Acacia mearnsii*, se utilizaron tratamientos de 20, 40 o 60 g/kg de materia seca donde el autor concluye que el uso de extracto de tanino *Acacia mearnsii* como suplemento alimenticio para los animales alimentados con raigrás a tasas de 20 a 60 g / kg de MS de ingesta, no afecta el suministro de aminoácidos en el duodeno mientras que muestra un impacto sobre la digestibilidad dando un efecto negativo en la ingesta de energía.

Khiaosa et al. (2009) investigaron *in vitro* los efectos de los taninos condensados (CT) y saponinas ya sea a través del extracto o unidos a la planta sobre la biohidrogenación ruminal del ácido α-linolénico (ALA). El heno de hierba de trébol sirvió como dieta basal (control) que se complementó con extractos que contribuyeron con CT de *Acacia mearnsii* 7.9% de la materia seca dietética (MS) y saponinas de *Yucca schidigera* (1.1% de MS). El cuarto tratamiento consistió en arenisca seca (*Onobrychis viciifolia*), una leguminosa forrajera que contiene CT en una cantidad que también proporciona 7.9% de CT en la dieta de la MS. Todas las dietas se complementaron con aceite de linaza a un nivel que contribuye con el 60% del ALA dietético total en todos los tratamientos. Ambos tratamientos con CT redujeron la degradación de la fibra ruminal y la proteína cruda. Así también, redujeron la concentración de amoníaco en el líquido de incubación. Solo el extracto de CT suprimió la formación de metano y desplazó las poblaciones microbianas. El extracto de saponina permaneció sin efectos claros en las características de fermentación excepto por el aumento en los recuentos de protozoos. El grado de biohidrogenación de ALA fue un 20% menor con la planta de CT, pero esto probablemente se debió a una menor degradabilidad de la materia orgánica más que a una inhibición de la biohidrogenación. Por otra parte, Odenyo et al. (1997) evaluó el efecto de *Acacia angustissim* sobre la fermentación ruminal en ovejas. Los animales murieron consumiendo 100 g por día del suplemento. El segundo grupo (tres animales) se adaptó gradualmente ofreciendo niveles incrementales de 50, 75, 100,

150 y 200 g por día de *A. ungustissima* durante 21 días. Los números de protozoos fluctuaron con el nivel del suplemento y los números disminuyeron en las ovejas que consumieron 100, 150 y 200 g del suplemento. También investigaron el efecto en la degradación donde no encontraron diferencias significativas. Min et al. (2003) señalan que los niveles bajos de taninos (menos del 4% de las dietas) pueden permitir que más proteínas de la dieta escapen de la degradación del rumen para llegar al tracto digestivo inferior. Por lo tanto, estos niveles aumentan la utilización de proteína cruda protegiéndola de la digestión en el rumen, aumentando así el flujo de aminoácidos esenciales al intestino delgado para su absorción.

Benchaar et al. (2007) se formularon la hipótesis de que la interacción de la monensina y el aceite esencial suprimirían la producción de protozoos y metano a la vez que mantendría la función normal del rumen. El tratamiento mostró efectos positivos sobre los protozoos disminuyendo la población. Además, los aceites esenciales mostraron un pH ligeramente ácido lo cual le permitió interactuar de manera más fácil con las membranas microbianas y por tanto modificaron la población ruminal y la producción de AGVs.

Delaquis et al. (2002) mencionan que los aceites esenciales de eneldo (*Anethum graveolens*), cilantro (semillas de *Coriandrum sativum*) y eucalipto (inmersiones de eucalipto) tienen concentraciones inhibitorias mínimas contra bacterias grampositivas, bacterias gramnegativas y *Saccharomyces cerevisiae*. El aceite esencial de cilantro fue particularmente efectivo contra *Listeria monocytogenes*, probablemente debido a la presencia de compuestos químicos como los terpenoides y fenilpropanoides. La mezcla de fracciones dio como resultado efectos aditivos, sinérgicos o antagonistas contra microorganismos de prueba individuales

Calsamiglia et al. (2007) analizaron los efectos de los aceites esenciales y sus componentes en la fermentación microbiana *in vitro* del rumen. Los tratamientos fueron; aceite de hoja de canela (400 mg L-1), aceite de hoja de clavo (200 mg L-1), aceite de naranja (200 mg L-1), aceite de orégano (200 mg L-1), aceite de tomillo (200 mg L-1), carvacrol (400 mg L-1), cinamaldehído (400 mg L-1), eugenol (800 mg L-1) y timol (400 mg L-1). Los compuestos fenólicos, carvacrol, timol y eugenol afectaron la fermentación ruminal en relación al tratamiento control. Carvacrol (400

mg L-1) y eugenol (800 mg L-1) aumentaron el pH, la proporción molar de propianato y disminuyeron la proporción molar de acetato a una concentración de 200 mg L-1, el timol aumentó el pH final y redujo la proporción molar de acetato. Este estudio demostró que los compuestos fenólicos exhibían actividad antimicrobiana, reduce la fermentación de la dieta y produce un cambio en el perfil de biohidrogenación de menos acetato hacia más propianato.

Yang et al. (2007) reportan que al suministrar 2 g/día de aceite esencial de enebro *in vivo* en vacas lecheras, mostraron un aumento en la digestibilidad de la materia seca en un 13 % utilizando dietas con forraje y concentrado (40:60). Estos investigadores explican que el efecto se dio probablemente al incremento de la digestibilidad de la proteína de manera significativa en un 11 %, pero también puede deberse a un ligero incremento de digestibilidad de otros nutrientes. Sin embargo, dosis altas de aceites esenciales decrecen la digestibilidad de MS, atribuible esto a la disminución de la digestibilidad de la fibra a nivel ruminal (Yang *et al*., 2014).

2.2.CATEGORÍAS FUNDAMENTALES O MARCO CONCEPTUAL

2.2.1. Extractos vegetales

Como extractos vegetales se conoce a una amplia variedad de compuestos que como su nombre indica tienen origen vegetal. Algunas plantas producen y almacenan compuestos secundarios que no están directamente implicados en su crecimiento, desarrollo o reproducción, pero que pueden ser los responsables del olor o sabor de las plantas y proteger frente a otras plantas, herbívoros y procesos abióticos causantes de estrés. Algunos de estos compuestos ejercen actividades beneficiosas en el organismo humano y animal debido a su actividad antioxidante ejerce efectos favorables sobre enfermedades cardiovasculares, procesos inflamatorios y tumorales, pero sus actividades más conocidas y destacadas son como estimulantes digestivos, antisépticos y antimicrobianos (Carro, Saro, Mateos, Díaz y Ranilla, 2012).

En lo que se refiere a su uso en la alimentación animal, los extractos vegetales constituyen actualmente una alternativa natural a los aditivos antibióticos promotores

del crecimiento, cuyo uso está prohibido en la Unión Europea y es cada vez más controvertido en aquellos países en los que continúan estando autorizados. De hecho, en numerosos experimentos revisados por Windisch et al. (2007) se ha demostrado que la utilización de ciertos extractos de plantas en cerdos y pollos puede producir resultados productivos similares a los registrados con los aditivos antibióticos. En los animales rumiantes se han realizado también numerosos estudios para determinar sus efectos y mecanismos de acción, pero una amplia mayoría de ellos se han llevado a cabo *in vitro* o se han centrado exclusivamente en los efectos de estos compuestos sobre la fermentación ruminal (Hart *et al*., 2016).

La producción de estos compuestos secundarios en las plantas es compleja y las concentraciones de los principios activos pueden ser muy variables dependiendo, entre otros factores la variedad de la planta, las condiciones de cultivo, la época del año y el método de recolección. Adicionalmente, el método de extracción de estos compuestos y el almacenamiento hasta su uso son complicados y también afectan a la concentración de las sustancias activas. Por ello, la información existente en la actualidad sobre los efectos de estos compuestos refleja una gran variabilidad. Existe un gran número de compuestos secundarios que pueden utilizarse como aditivos en la alimentación de los rumiantes, pero entre ellos destacan las saponinas, los taninos y los aceites esenciales (Jouany y Morgavi, 2007).

2.2.2. Uso de vegetales para reducir el metano

Las plantas producen una extensa variedad de compuestos orgánicos derivados del metabolismo secundario que parece no tener función directa en su crecimiento y desarrollo (Oh y Hristov, 2016). Con los años, estas sustancias han sido considerados productos de desecho del metabolismo primario. Sin embargo, son responsables del olor y el color de las plantas, estos compuestos secundarios tienen importantes funciones ecológicas y a menudo exhiben actividad antimicrobiana contra una amplia gama de bacterias, levaduras y mohos (Sun *et al*., 2011). Los metabolitos secundarios, por lo general, se pueden estructurar en 3 grupos: saponinas, taninos, y aceites esenciales. (Liwiński *et al*., 2002).

- **Acacias**

Las Acacia es un género de arbustos y árboles de la Familia *Leguminosae*, Subfamilia *Mimosoideae*, compuesto por más de 1300 especies, que se distribuyen en forma natural en todos los continentes con la excepción de Europa. El género comprende arbustos y árboles, que pueden llegar a medir de 1 a 20 m de altura. Sus hojas son variables, principalmente de dos tipos; compuestas pinnadas o foliadas (Asenjo, 2007). Tienen gran cantidad de proteína pero debido a su alta cantidad de compuestos secundarios como taninos y saponinas es poco utilizado en la alimentación de los animales ya que es considerado como anti nutricional (Waghorn y Hegarty, 2011). En la tabla 1, se reporta la clasificación taxonómica de las acacias.

TABLA 1.

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LAS ACACIAS

Clasificación taxonómica de las acacias	
Reino:	*Vegetal*
División:	*Embriophyta*
Subdivisión:	*Angiosperma*
Clase:	*Dicotiledonea*
Orden:	*Rosales*
Familia:	*Leguminoseae*
Genero:	*Acacia*

Fuente: Garcia et al. (1996)

Algunos autores como Abdullah, Farghaly y Youssef (2018) indican que la alimentación a niveles bajos de *Acacia nilotica* (1.5% y 3.0%) en los concentrados pueden usarse como protectores naturales de proteínas en rumiantes formando complejos de proteínas con los taninos en el rumen para maximizar los aminoácidos disponibles en el tracto digestivo inferior . Además, estos niveles pueden aumentar la digestibilidad de la proteína. En la tabla 2, se reporta los compuestos antinutricionales de las acacias.

TABLA 2.

COMPUESTOS ANTINUTRICIONALES DE LAS ACACIAS

Contenido de compuestos antinutricionales	
Taninos	76,7 mg/100g
Fitatos	16,2 mg/g
Inhibidores de tripsina	28,2 UI/mg

Fuente: Garcia et al. (1996)

- **Sacha inchi (*Plukenetia volubilis L.*)**

P. volubilis L., es una planta tipo arbusto trepador que crece a una altitud entre 100 a 1500 msnm, y es conocida comúnmente como maní del inca (Castaño *et al*., 2012). Esta planta es originaria de la selva de Perú, ya que se estima fue empleada por la civilización inca hace 3000 años. Hoy en día se encuentra en las selvas montañosas de Colombia y Ecuador. En esta última, se evidencia un crecimiento progresivo de estos cultivos. *P. volubilis L.*, presenta cápsulas tetra lobulares, las cuales contienen cuatro semillas de un diámetro de alrededor de 2 cm (Gutiérrez, Rosada y Jiménez, 2011). Además, las semillas presentan un alto contenido de proteína (33%) y de lípidos (54%) del cual un 50.8% pertenece a ácidos grasos omega 3 (linolénico), cerca del 33,4% ácidos grasos omega 6 (linoleico) y aproximadamente un 9% a ácidos grasos omega 9 (oleico), su contenido de ácidos grasos saturados es relativamente bajo, de alrededor del 6% (Pastuña, 2016).

- **Aceite de Sacha Inchi**

El aceite de *P. volubilis L.*, presenta un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), contiene vitaminas liposolubles (A y E) y antioxidantes. Este tipo de ácidos grasos poliinsaturados contrarrestan enfermedades cardiovasculares de manera que este aceite de *P. volubilis L.*, resulta de gran interés para las industrias alimenticias y farmacéuticas a nivel mundial (Garmendia, Pando y Ronceros, 2011). En la tabla 3, se reporta la composición química del aceite de *P. volubilis L.*

TABLA 3.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ACEITE DE Plukenetia volubilis.

Composición química de ácidos grasos de aceite de *Plukenetia volubilis*	
Ácidos grasos	**Extracto etanólico g/100g**
Palmítico	3.60
Esteárico	2.90
Oleico	8.50
Linoleico	33.90
Linolénico	50.20
Eicosanoico	0.32
Behénico	1.20
Colesterol	0.20
24-methylene colesterol	0.08
Campesterol	6.10
Campestanol	0.40
Estigmasterol	27.10
Cholerosterol	0.70
β-sitosterol	56.40
sitostanol	0.80
β-caroteno	52.00

Fuente: Castaño T et al. (2012)

- **Cacao (*Theobroma cacao*)**

Theobroma cacao es un arbusto de 2 a 3 m altura de hoja perenne de la familia *Malvaceae*, que crece en ambientes tropicales. En la producción de cacao fino, el Ecuador participa con el 50% de la oferta mundial, en el 2011 el país exportó una cifra record de 164 705 toneladas y tiene la oportunidad de aumentar su participación con una mayor producción. Es importante mencionar que la producción de cacao tiene una alta diferencia en relación a las otras producciones que se cultiva, cosecha y

comercializa con mayor frecuencia, demostrando que este nicho de mercado es rentable en todos sus aspectos (Vallejo *et al*., 2016).

- **Mucílago de cacao**

El fruto de *theobroma cacao* es de tamaño, forma y color variable, la pared es dura y gruesa. Las semillas están rodeadas por una pulpa aromática la cual procede de sus tegumentos (Arteaga, 2017). La pulpa mucilaginosa está compuesta por células esponjosas parenquimatosas, que contienen células de savia ricas en azúcares (10-13%), pentosas (2-3%), ácido cítrico (1-2%) y sales (8-10%). Durante el proceso de cosecha de las semillas de *theobroma cacao*, la pulpa es removida por fermentación e hidrolizada por microorganismos (Mejía y Arguello, 2000). Durante la fermentación la pulpa provee el sustrato para varios microorganismos que son esenciales para el desarrollo de los precursores del sabor del chocolate. Aunque la pulpa es necesaria para la fermentación, a menudo hay más pulpa de la necesaria. Aproximadamente de 40 litros de pulpa se pueden obtener 800 kilos de semillas frescas (Ortiz y Álvarez, 2015)

TABLA 4.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MUCÍLAGO DE CACAO (Teobroma cacao)

Composición química del mucílago de cacao	
Componente	%
Agua	79,2 – 84,2
Proteína	0,09 – 0,11
Azúcares	12,5 – 15,9
Glucosa	11,6 – 15,32
Pectinas	0,9 – 1,19
Ácido cítrico	0,77 – 1,52
Cenizas	0,40 – 0,50

Fuente: Mejía y Arguello, (2000)

2.2.3. Compuestos secundarios

- **Aceites esenciales.**

Los aceites esenciales (AE) son componentes secundarios de las plantas, generalmente de naturaleza volátil. El término esencial deriva de la palabra "esencia" lo cual significa que se puede oler o degustar. Se caracterizan de acuerdo a sus multitudes composiciones químicas, naturaleza y propiedades bioactivas (Alicia *et al*., 2014). La concentración y tipo de AE en las plantas varía por especie y segmento de la planta principalmente, pero también se han reportado diferencias dependientes de la región geográfica y estación de cosecha. La función principal de los AE es brindarle a la planta protección contra agentes estresantes abióticos y bióticos, y en algunas ocasiones atraer a otros organismos para favorecer la polinización y dispersión de sus semillas (Benchaar *et al*., 2007).

Los principios activos que se encuentran en AE se clasifican dentro de dos grupos químicos; terpenoides (monoterpenoides y sesquiterpenoides) y fenilpropanoides.

Estos ejercen su acción contra las bacterias Gram positivas principalmente, mediante interacciones con las membranas celulares de éstas (Dorman *et al*., 2000). Se acumulan en la doble capa lipídica de la bacteria, y ocupan espacios entre las cadenas de los ácidos grasos, por lo que causan de esta manera cambios morfológicos en la estructura de la membrana, y como resultado fluidificación y expansión (Delaquis *et al*., 2002). La pérdida en la estabilidad de la membrana da como resultado fugas o pérdidas de iones, lo que causa un decreciente gradiente iónico transmembranal, y aunque la bacteria puede contrarrestar estos efectos, el costo energético es elevado y provoca al final un crecimiento lento o su muerte (Duval y Hart, 2008). Otros efectos antimicrobianos son la capacidad para coagular algunos componentes de la membrana que se cree son mediante procesos de desnaturalización de proteínas y actividad en enzimas principalmente. Ejemplo de esto es la alicina que se ha demostrado que interactúa con proteínas y aminoácidos que contienen grupos sulfhídricos (Garcia *et al*., 2003).

A nivel ruminal se ha reportado que los aceites esenciales inhiben a las bacterias productoras de nitrógeno amoniacal, decreciendo así la desanimación de los aminoácidos principalmente en dietas que contienen cantidades no muy altas de proteína También se ha observado que el número total de bacterias viables no es afectado, es decir cambian solamente las proporciones de grupos bacterianos (Lee *et al*., 2003).

- **Taninos**

Los taninos son compuestos polifenólicos, se encuentran en muchas plantas dicotiledóneas, especialmente en leguminosas forrajeras de regiones templadas y tropicales. Son empleados por las plantas como mecanismo de defensa contra herbívoros y patógenos y para la conservación del nitrógeno. La característica principal de los taninos es su capacidad para formar complejos reversibles con las proteínas. Prasetiyono et al., (2018). Existen dos grupos principales de taninos: hidrolizables y condensados, los cuales pueden tener efectos tóxicos o antinutricionales o benéficos en animales, dependiendo de su concentración en las plantas (Cortés *et al*., 2009).

Johnson et al. (2007) reportan que cantidades moderadas de taninos condensados producen efectos benéficos sobre el metabolismo de las proteínas en rumiantes, porque reducen la degradación de la dieta proteínica en el rumen e incrementan la absorción de aminoácidos en el intestino delgado. Además, reduce el impacto del parasitismo gastrointestinal y la presentación de timpanismo. Los efectos negativos de los taninos condensados se relacionan con la disminución del consumo de alimentos, debido probablemente a la reducción de la palatabilidad ocasionada por los efectos astringentes de estos compuestos en la saliva (Tavendale *et al*., 2005).

- **Saponinas**

Guo et al. (2008) indican que las saponinas son glucósidos de alto peso molecular que disminuyen la tasa de producción de metano. Además, interactúan con el colesterol presente en la membrana de los protozoarios causando su lisis, se cree que este efecto se debe a la disminución en la trasferencia de hidrógenos desde los protozoarios a los microrganismos metanogénicos asociados a la superficie de éstos y la reducción en la digestión de la fibra (Hess *et al*., 2008). Las poblaciones microbiales se adaptan a la presencia de estos compuestos y los degradan por lo cual su efecto no sería permanente (Beauchemin *et al*., 2008).

Las leguminosas más comúnmente usadas en zonas templadas como la alfalfa y el trébol blanco contienen saponinas que ayudan a reducir las emisiones de metano debido a un mayor consumo de alimento y aumento en las tasas de paso (Hess *et al*., 2008).

2.2.4. Fermentación ruminal

Pecka et al. (2015) señalan que la fermentación ruminal es una simbiosis entre el rumiante y los microorganismos del rumen, el rumiante proporciona condiciones apropiadas de pH temperatura y humedad para el crecimiento microbiano y a su vez el rumiante utiliza los productos de la fermentación anaeróbica como los ácidos grasos volátiles para cubrir sus necesidades nutritivas. Sin embargo, el resultado de esta

fermentación microbiana también produce compuestos tóxicos como el metano, amoniaco y nitratos (Oh y Hristov, 2016).

2.2.5. Microorganismos que actúan en la metanogénesis.

- **Bacterias.**

Moss et al. (2002) señalan que el metano es producido por las bacterias metanógenas del genero arquea, un grupo microbial diferente a las eubacterias o bacterias verdaderas. Las bacterias metanógenas incluyen: *Methanobrevibacter ruminantium, Methanobacterium formicicum, Methanomicrobium mobile*. Otra especie, Methanosarcinas, es frecuente en ovejas que reciben una alimentación que contiene melaza (Dhiman *et al*., 2018).

Hatew et al. (2016) indican que las bacterias metanógenas regulan la fermentación total al eliminar H_2, la reducción de CO_2 con H_2 es el método principal por el que se produce CH_4 en el rumen. Sin embargo, otras bacterias metanógenas como *Methanosarcina barkerii*, utilizan metanol, metilamina y acetato para producir CH_4. Al mantener baja la concentración de H_2 mediante la formación de CH_4, las bacterias metanógenas también promueven el crecimiento de otras especies tales como *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefasciens, Selenomonas ruminantium* produciendo más H_2 y permitiendo una fermentación más eficaz (Bule *et al*., 2018)

- **Protozoos.**

Moss et al. (2000) manifiestan que los protozoos también juegan un papel importante en la producción de metano, particularmente cuando el ganado es alimentado con dietas altas en concentrado. Las bacterias metanógenas pueden adherirse a los protozoos permitiendo una trasferencia interespecífica de H_2. Por tal razón los animales que reciben dietas con alto contenido de concentrados pueden disminuir la producción de metano hasta la mitad permitiendo una fermentación más eficaz (Moss y Givens, 2002).

- **Hongos.**

Hosoda et al. (2006) manifiestan que los hongos no predominan en el rumen debido a su lento tiempo de generación pueden representar el 8% de la masa microbiana, aunque si el animal recibe dietas ricas en concentrados o forrajes de alta calidad su número reduce. Los hongos pueden tener actividad sobre la celulosa y hemicelulosa gracias a sus rizoides que pueden penetrar la pared celular, pero no pueden degradar la pectina.

2.2.6. Degradación de los carbohidratos

Los carbohidratos son el componente principal para mantener un buen funcionamiento del rumen, ya que aportan energía a los microorganismos ruminales y al animal. Desde el punto de vista nutricional se dividen en fibrosos y no fibrosos. Los carbohidratos no fibrosos se fermentan rápidamente, pero pueden producir una acidosis ruminal, mientras que los carbohidratos fibrosos son más resistentes a la degradación, limitan la ingestión, pero estimulan más a la rumia y aumentan la producción de saliva (Pinares *et al*., 2003).

- **Carbohidratos no estructurales.**

Jayanegara et al. (2009) señalan que, las bacterias aminolíticas son las encargadas de degradar los almidones y fructosanos dando como resultado el propianato. Estas bacterias actúan de manera sinérgica junto con las enzimas adhiriéndose al sustrato y degradando toda su estructura. Así también Sun et al. (2011) manifiestan que, los concentrados ricos en almidón se fermentan rápidamente y producen gran cantidad de ácidos grasos volátiles que son aprovechados por el animal. Por otra parte, disminuyen la masticación y por ende se reduce la producción de saliva lo que provoca una disminución de sustancia tampón para el líquido ruminal, bajando el pH y desestabilizando la fermentación ruminal. Los almidones que no son degradados a nivel ruminal pasan al intestino donde se degrada por acción de la amilasa pancreática (Pecka *et al*., 2015).

- **Carbohidratos estructurales.**

Purcell et al. (2012) indican que los carbohidratos estructurales se encuentran en la fibra vegetal de la planta, están compuestos por microfibrillas de celulosa sobre una masa amorfa de hemicelulosa, pectina, lignina, minerales y otros componentes. Los alimentos fibrosos son de degradación lenta, inicia con la adhesión de las bacterias a la pared celular a través de las adhesinas, receptores del material vegetal o mediante enlaces iónicos (Navarro *et al*., 2011). Las superficies externas de los vegetales están recubiertas por compuestos secundarios como: lignina, taninos, cutina y sílice lo que dificulta la degradación bacteriana. Por tal razón la degradación va ser de adentro hacia fuera (Taweel *et al*., 2005). Los hongos ayudan a degradar el material fibroso ya que son los únicos que pueden penetrar está cubierta y permitir nuevos sitios de adhesión para las bacterias. Las principales bacterias celulolíticas son: *Fibrobacter succinogenes, Ruminococcus flavefaciens* (Ávila *et al*., 2015).

Los forrajes maduros tienen una mayor concentración de carbohidratos estructurales que ha sido relacionada directamente con una mayor producción de metano por el alto contenido de fibra y por su lenta degradación (Sun *et al.*, 2011). Mientras que, los forrajes tiernos con mayores concentraciones de carbohidratos solubles favorecen las rutas de degradación de los carbohidratos hacia propionato (Murphy *et al*., 1982).

2.2.7. Degradación de la proteína.

La proteína es un nutriente primordial en la dieta de los animales ya que proporciona nitrógeno a las bacterias ruminales y aporta aminoácidos al animal. El aporte de nitrógeno puede ser exógeno (alimento) y endógeno (del propio rumiante), de estos aportes la proteína verdadera es la más importante y se puede clasificar en degradable, aporta péptidos, aminoácidos y amoniaco a las bacterias ruminales, y la no degradable aporta péptidos y aminoácidos directamente al animal (Navarro *et al*., 2011).

La proteína se encuentra en el alimento como proteína verdadera o como nitrógeno no proteico (NNP), mediante la acción de las bacterias ruminales proteolíticas el NNP y las proteínas dan lugar a la formación de amoníaco (NH_3) y cadenas carbonadas

(Slanac, Kucseva, Balbuena y Rochinotti 2013). Si hay energía disponible el NH_3 es utilizado para la síntesis de proteína bacteriana. Existe una fracción de proteína que atraviesa el rumen rumbo al intestino sin ser alterada, siendo digerida más adelante por las enzimas intestinales. Ello implica que la proteína que arriba al intestino proviene de la suma de la proteína bacteriana más la no degradable del alimento (Salcedo, 2000)

2.2.8. Producción de metano en la ganadería

Los animales rumiantes poseen un sistema digestivo complejo que aprovechan alimentos fibrosos con altos contenidos de carbohidratos estructurales y convierten en alimentos de alta calidad nutritiva, la carne y la leche (Vargas y Pabón, 2012). Sin embargo, por sus características innatas, este mismo sistema digestivo también produce metano, un potente gas con efecto invernadero que contribuye con aproximadamente el 18% del calentamiento global, superado sólo por el CO_2 (Orlandi *et al*., 2015)

Bernier et al. (2012), indican que el 87% de la producción de metano se da en el rumen, y el 13% en el tracto digestivo posterior. De este último el 89% es absorbido hacia la sangre y expirado a través de los pulmones. Esto indica que el 98% del total de metano producido puede ser expirado a través de la boca y los orificios nasales. La eliminación de metano en el ganado inicia a las cuatro semanas de vida aproximadamente, cuando el animal empieza a consumir alimentos sólidos que son retenidos en el retículo-rumen, dando inicio a la fermentación ruminal y la producción de gases Hellwing et al., (2018). Se estima que la producción anual de metano en animales adultos está entre 60 y 126 kg (Kurniawati *et al*., 2018). El metano representa pérdidas de energía entre 2 al 12 % de la ingesta de energía bruta en los rumiantes, dependiente del nivel del consumo de alimento y tipo o composición de la dieta. Se ha mencionado que una disminución de metano del 25 % en los rumiantes, puede resultar en incrementos de 1 litro de leche al día en vacas altas productoras, y de 75 g/día de incremento de peso en bovinos productores de carne. (Weimer, 1998).

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. HIPÓTESIS

Ha: La adición de extractos vegetales y aceite de Sacha inchi NC en dietas alimenticias influyen positivamente sobre la fermentación ruminal *in vitro.*

3.2.OBJETIVOS

3.2.1. Objetivo general

Evaluar la influencia de extractos vegetales y aceite de Sacha inchi sobre la fermentación ruminal *in vitro*.

3.2.2. Objetivos específicos

- Determinar los límites de inclusión (1, 3, 5 µl/ 0.5 g de dieta) de extractos vegetales (*Albizia lophanta, Acacia hayesii, Acacia melanoxylon,* mucilago de *Theobroma cacao*) y aceite de *Plukenetia volubilis*.

- Analizar el proceso de fermentación ruminal *in vitro* de acuerdo a cada extracto vegetal y aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*).

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1.UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

El presente proyecto se realizó en la Provincia de Tungurahua, cantón Cevallos, sector Querochaca, ubicado en el sector centro sur de la provincia a 14 Km de la ciudad de Ambato.

4.2.CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR

TABLA 5.

CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR

Características	
Altitud, msnm:	2 864
Latitud:	01° 22’ 20’’ latitud Sur y 78° 36’ 22’’ longitud Oeste
Temperatura media, ^{0}C:	13
Humedad relativa, %:	60 – 75
Precipitación, mm:	517.8

Fuente: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI), (2016)

4.3. EQUIPOS Y MATERIALES

4.3.1. Equipos

- Tanque de CO_2
- Molino de martillo
- Transductor de presión (DO 9704, Delta OHM, Italia)

- pH-metro (BANTE-221 portable pH/ORP Meter)
- Balanza analítica 150g (0.001g)
- Estufas
- Baño María
- Desecadora
- Cromatógrafo de gases
- Espectrofotómetro
- Computadora portátil

4.3.2. Materiales

- Baldes de 14 L.
- Cocineta.
- Papel aluminio.
- Tamiz (1 mm)
- Licuadora
- Jeringas de 5, 10, 20 y 60 ml.
- Papel filtroPropilenglicol
- Fundas plásticas de 5 lb
- Frascos de vidrio color marrón de 100 ml.
- Crisoles
- Pinzas
- Vasos de precipitación
- Matraces aforados
- Imanes
- Guantes de látex
- Botas
- Overol
- Tubos Eppendorf de 2 ml
- Extractos de vegetales (Acacias, mucilago de cacao, Aceite de Sacha inchi)

4.3.3. REACTIVOS

- Bicarbonato de sodio
- Bicarbonato de amonio
- Fosfato de sodio
- Fosfato de potasio
- Sulfato de magnesio
- Cisteína

4.4. FACTORES EN ESTUDIO

F1: Extracto de *Albizia lophanta*

F2: Extracto de *Acacia melanoxylon*

F3: Extracto de *Acacia hayesii*

F4: Mucilago de cacao (*Theobroma cacao)*

F5: Aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*)

F6: Mezcla de extractos sin aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*)

F7: Mezcla de extractos más aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*)

Dosis para los factores en estudio

D1: 1 µl/0.50 g de dieta

D2: 3 µl/0.50 g de dieta

D3: 5 µl/0.50 g de dieta

Para el desarrollo de la presente investigación también se utilizó un tratamiento control con 6 repeticiones y no contiene ningún tipo de aditivo.

4.5. TRATAMIENTOS

Los tratamientos con sus respectivas repeticiones van distribuidos en la tabla 6 de la siguiente manera.

TABLA 6.

DISTRIBUCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

N^0 Tratamientos	**Simbología y dosis (µl/ 0.5 g de dieta)**	**N^0 Rep.**	**Descripción**
1	Control	6	No contiene aditivo
2	AL 1	6	Extracto de *A. lophanta*
3	AL 3	6	Extracto de *A. lophanta*
4	AL 5	6	Extracto de *A. lophanta*
5	ASI 1	6	Aceite *Plukenetia volubilis*
6	ASI 3	6	Aceite *Plukenetia volubilis*
7	ASI 5	6	Aceite *Plukenetia volubilis*
8	AH 1	6	Extracto de *A. hayesii*
9	AH 3	6	Extracto de *A. hayesii*
10	AH 5	6	Extracto de *A. hayesii*
11	AM 1	6	Extracto de *A. melanoxylon*
12	AM 3	6	Extracto de *A. melanoxylon*
13	AM 5	6	Extracto de *A. melanoxylon*
14	BC 1	6	Mucilago *Teobroma cacao*
15	BC 3	6	Mucilago *Teobroma cacao*
16	BC 5	6	Mucilago *Teobroma cacao*
17	MSA 1	6	Mezcla extractos sin aceite
18	MSA 3	6	Mezcla extractos sin aceite
19	MSA 5	6	Mezcla extractos sin aceite
20	MCA 1	6	Mezcla extractos con aceite
21	MCA 3	6	Mezcla extractos con aceite
22	MCA 5	6	Mezcla extractos con aceite

Para la investigación se utilizó una dieta experimental alta en fibra formulada para rumiantes (Tabla 7) donde se adicionó 1, 3, 5 µl/0,500 g de dieta para cada uno de los tratamientos antes mencionados (Tabla 6). En la tabla 7 se reporta los ingredientes con sus niveles de inclusión

TABLA 7.

DIETA EXPERIMENTAL

Ingredientes	**% inclusión**
Paja de cebada	40.482
Torta de soya	22.308
Harina de alfalfa	11.197
Maíz partido	13.781
Melaza de caña	8.613
Aceite de palma	2.153
Sal yodada	0.517
Vit + Min	0.947
Total	100
Composición química	
MS	83.25
FDN	50.85
FDA	30.00
PC	16.54

Fuente: Fundación Española para el desarrollo de la Nutrición Animal. (FEDNA), 2010

4.6. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

Se realizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial (7x3+1 con 6 repeticiones). Los datos se analizaron mediante la prueba estadística Tukey al 95 % de confianza.

4.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO

- Los extractos se prepararon según la metodología de Salem (2012) que consiste en recolectar hojas de diferentes partes del árbol de las acacias (*Albizia lophanta, Acacia melanoxylon, Acacia hayesii*) que vamos utilizar para nuestro experimento. Las hojas se cortaron en trozos frescos de 1 a 2 cm de longitud e

inmediatamente fueron colocados en un vaso de precipitación para mezclar con un disolvente, este disolvente contiene 10 ml de metanol, 10 ml de etanol y 80 ml de agua destilada, tapamos los frascos y dejamos incubar a temperatura ambiente (25 – 30 ^{0}C) durante 48 a 72 horas en el laboratorio, una vez transcurrido este tiempo calentamos los frascos a 30 ^{0}C en baño maría durante 1 hora para luego filtrar y obtener nuestros extractos.

- Para la obtención del mucílago de cacao adecuamos un cajón con una pendiente de dos cm en la base y una rendija pequeña por donde sale la baba de cacao.
- El aceite de *Plukenetia volubilis* lo obtuvimos mediante un extractor de aceites de la facultad de Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.
- Para el experimento se recolectó contenido ruminal de forma separada de cada toro. El contenido ruminal se colectó en fundas plásticas antes de la alimentación en la mañana, las mismas se colocaron en recipientes plásticos (baldes) con agua caliente a temperatura controlada (39 °C) y se los transportó al laboratorio para ser procesados dentro de la primera hora de la recolección. La saliva artificial se preparó según el método de Menke y Steingass (1988) que consistió en la preparación de una solución búfer a base de Bicarbonato de Sodio y Bicarbonato de Amonio. Así también, una solución de macrominerales a base de Fosfato de Sodio, Fosfato de Potasio y Sulfato de Magnesio, adicionalmente se preparó una solución reductora a base de Cisteína, también se aplicaron microminerales, un indicador y bajo flujo continuo de CO2 durante una hora y media en baño maría a una temperatura de 39.5 °C. Para la producción de gas se pesó 0.500 mg de MS de muestra en botellas de vidrio con capacidad de 100 ml. En las botellas se incubó 60 ml del inóculo (70:30 saliva artificial/inóculo) bajo flujo de CO2 continuo. Las botellas se incubaron a 39.5 ºC en una estufa. La medición de la presión de gas y el volumen se realizó manualmente a los siguientes tiempos 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72, 96 horas, con ayuda de un transductor de presión y jeringas plásticas

4.7. VARIABLE RESPUESTA

4.7.1. Producción de gas *in vitro*

La producción de gas se realizó mediante la técnica descrita por Theodorou et al. (1994), la cual consiste en colocar 0.500 mg de MS de muestra (tratamientos experimentales) en botellas de vidrio con capacidad de 100 ml. En las botellas se incubó 60 ml del inóculo (70:30 medio; saliva artificial/inóculo; contenido ruminal) bajo flujo de CO2 continuo. Las botellas se incubaron a 39.5 ºC en una estufa. La medición de la presión de gas y el volumen se realizó manualmente a los siguientes tiempos 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72, 96 horas, con ayuda de un transductor de presión (DO 9704, Delta OHM, Italia) y jeringas plásticas. Para cada tratamiento se utilizaron 6 botellas por tratamiento en cada tiempo y tres botellas adicionales como blancos.

4.7.2. Producción de metano y CO_2 *in vitro*

Bajo el mismo procedimiento antes mencionado para la producción de gas *in vitro*. La medición de metano y CO_2 se realizó manualmente a los siguientes tiempos 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72, 96 horas, con ayuda de un monitor de gases (SMART 6 SENSOR GX - 6000). y jeringas plásticas. Para cada tratamiento se utilizaron 6 botellas en cada tiempo.

4.7.3. Digestibilidad *in vitro*

Para la digestibilidad *in vitro* se utilizó el mismo procedimiento que usamos para la producción de gas, pero solo se incubó hasta las 48 horas. Posterior a la incubación se filtró el contenido de cada frasco con ayuda de papel filtro y se secó en una estufa a 60 ºC de temperatura hasta obtener peso constante para estimar la digestibilidad MS, posteriormente se colocaron las muestras filtradas y secadas en crisoles en una mufla a 600 °C de temperatura durante 6 horas para estimar la digestibilidad de MO.

4.7.4. pH ruminal

Bajo el mismo procedimiento antes mencionado para la producción de gas *in vitro* se prepararon 550 frascos de vidrio que sirvió para colectar muestras de contenido ruminal en los siguientes tiempos de incubación 0, 2, 4, 8, 12 y 24 horas. De cada frasco (n=5 tratamiento) de cada tiempo y cada tratamiento se midió el pH ruminal con ayuda de un pH-metro (BANTE-221 portable pH/ORP Meter).

4.8. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Para el análisis estadístico en la presente investigación se empleó el programa PROC GLM del SAS (2009).

CAPÍTULO V

5.1. RESULTADOS

5.1.1. Producción de gas, metano y CO2 *in vitro.*

En la tabla 8, se observa que el volumen acumulado de gas (Vfi) muestra diferencia (P<.0001) entre tratamientos, obteniendo la menor producción en las dietas con inclusión de extracto de *Albizia lophanta* AL 1% (506.28 ml/0.5g MS) y aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) ASI 1% (538. 87 ml/0.5g MS) en comparación con la dieta control (587.88fgh ml/0.5g MS). En cuanto al tiempo de colonización (B) mostraron diferencias (P<.0001) entre tratamientos, obteniendo los menores valores en dietas con AL 1%, ASI 1%, ASI 3% y ASI 5%. La tasa constante de producción de gas (C), mostró diferencias (P<.0001) entre los tratamientos siendo el valor más bajo para la dieta con BC 5% con respecto a las demás dietas.

La producción de metano mL/0.5g MS (Vfi) muestra diferencias (P<.0001) entre tratamientos, obteniendo la menor producción en las dietas con AL 1% (51.312 mL/0.5g MS) y ASI 1% (54.908 mL/0.5g MS) con respecto a la dieta control (58.13 ml/0.5g MS). En cuanto al tiempo de colonización (B) se observa diferencias (P<.0001) entre tratamientos, siendo los valores más bajos para las dietas con ASI 1%, ASI 5% y MSA 1% con respecto al resto de las dietas incluido la dieta control. Para la tasa constante de producción de gas metano (C), se observa el menor resultado para dieta con MCA 5%, presentando diferencia (P<.0001) con respecto a las demás dietas.

La producción de CO2 mL/0.5g MS (Vfi) mostro diferencia (P<.0001) entre tratamientos, obteniendo la menor producción en la dieta con AL 1% (160.45 mL/0.5g MS) con respecto a la dieta control (195.20 ml/0.5g MS) y los demás tratamientos. El tiempo de colonización (B) mostraron diferencias (P<.0001) entre tratamientos, observando los mejores resultados en dietas con ASI 3%, ASI 5% y MSA 5%. En cuanto a la tasa constante de producción de gas (C), se observa el menor resultado para la dieta que contienen BC 5%, presentando diferencia (P<.0001) con respecto a las demás dietas.

5.1.2. pH y Digestibilidad *in vitro* de la MS y MO.

En la tabla 9, se observa que el pH ruminal muestra diferencia (P<.0001) entre tratamientos, presentando el valor más óptimo para la dieta con ASI 1% en las diferentes horas (6.9 – 6.99). Con respecto a la digestibilidad *in vitro* de la MS y MO mostró diferencias (P<.0001 y P<.0001 respectivamente) entre tratamientos, observándose una mayor digestibilidad tanto de MS como de MO en la dieta con ASI 1% con respecto a los demás tratamientos.

TABLA 8. PARÁMETROS *IN VITRO* DE PRODUCCIÓN DE GAS, CH_4 Y CO_2 (ml/0.5g MS) COMO EFECTO DE LA ADICIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES Y ACEITE DE SACHA INCHI EN UNA DIETA PARA RUMIANTES.

Aditivo	Dosis (µl/0.5g MS en la dieta)	Producción de gas			Producción de CH_4			Producción de CO_2		
		Vif	B	C	Vif	B	C	Vif	B	C
Control	0	587.88fgh	37.87de	1.0abcde	58.137fgh	38.437b	2.2727abcdef	195.20fg	46.048bc	2.3840abc
AL	1	506.28h	24.60e	1.1[a]	51.312h	42.400ab	3.0015ab	160.45g	48.603abc	1.9105cdef
	3	819.82abcde	40.62de	1.0cdefg	85.457ab	40.515ab	2.1507cdef	282.62abcd	47.787abc	1.9062cdef
	5	669.67defgh	46.11cde	0,9cdefg	73.947bcde	41.542ab	2.2067bcdef	241.40cdef	45.645bc	2.1842bcde
ASI	1	538.87gh	31.46e	1.0abcd	54.908gh	28.098d	2.7785abcd	205.38efg	45.638bc	2.0107cdef
	3	644.58efgh	31.37e	1.1abc	81.450abc	29.502cd	2.3737abcdef	203.80efg	35.073c	2.2957bcd
	5	731.38bcdefg	32.00e	1.0abc	90.522a	28.722d	2.4385abcdef	239.57cdef	37.297c	1.9125cdef
AH	1	737.23bcdefg	68.86bcde	1.0bcdef	83.970ab	41.705ab	2.7052abcd	318.70ab	47.367abc	2.2870bcd
	3	862.60abcde	63.52bcde	1.1ab	84.078ab	45.542ab	2.4132abcdef	296.38abc	48.908abc	2.3068bcd
	5	886.12abcd	56.89bcde	1.1ab	80.470abcd	42.165ab	3.0593a	284.52abcd	39.638bc	2.6955ab
AM	1	988.87a	64.94bcde	1.0abcd	62.277efgh	47.100a	2.4310abcdef	232.48cdef	43.297bc	2.9715a
	3	862.52abcde	76.50abcde	0.9efgh	74.098bcde	43.003ab	2.9133abc	275.28abcd	46.038bc	2.2988bcd
	5	941.80ab	97.30abcd	0.8gh	73.960bcde	42.423ab	2.7960abcd	328.42a	56.213ab	1.7453def
BC	1	721.15bcdefgh	47.39cde	0.9efgh	67.225cdefg	37.750bc	2.2683abcdef	230.42def	42.538bc	2.1542bcde
	3	706.77cdefgh	44.99cde	0.9efgh	72.435bcdef	41.913ab	1.9265ef	279.37abcd	57.368ab	1.6173ef
	5	681.68defgh	58.27bcde	0.8h	66.815cdefg	43.687ab	2.0357def	263.95abcde	64.473a	1.5123f
MSA	1	973.73a	138.76[a]	0.9fgh	65.342defgh	26.468d	2.5947abcdef	228.85def	52.560abc	2.3283bcd
	3	908.12abc	111.91ab	0.9fgh	67.438cdefg	47.037a	2.3847abcdef	237.45cdef	51.948abc	2.2463bcd
	5	772.13abcdef	104.41abc	0.9efgh	62.562efgh	45.653ab	2.5282abcdef	202.57efg	36.722c	1.8217cdef
MCA	1	698.32cdefgh	84.74abcde	0.defgh	57.153fgh	42.542ab	2.5258abcdef	198.65efg	49.335abc	2.1192bcde
	3	980.07a	80.70abcde	0.9efgh	86.100ab	43.710ab	2.5148abcdef	322.90a	52.558abc	1.9812cdef
	5	910.73abc	98.81abcd	0.9fgh	83.882ab	47.915a	1.8825f	253.17bcdef	50.393abc	1.9772cdef
EEM		42.944880	12.105752	0.023	2.9535215	1.6425339	0.15547883	12.598204	3.4555621	0.11549646
Valor P		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

A,b Medias dentro de una columna seguida por la misma letra no son significativamente diferentes en P=0.05. Control: Dieta testigo, Al: Dieta con 1, 3 y 5 % de extracto de *Albizia lophanta*, ASI: Dieta con 1, 3 y 5 % de aceite de sacha inchi. AH: Dieta con 1,3 y 5 % de extracto de *Acacia hayesii*, AM: Dieta con 1,3 y 5 % de extracto de *Acacia melanoxylon*, BC: Dieta con 1, 3 y 5 % de extracto de baba de cacao, MSA: Dieta con 1, 3 y 5 % de la mezcla de extractos sin el aceite de sacha inchi, MCA: Dieta con 1,3 y 5 % de la mezcla de los extractos más el aceite de sacha inchi, EEM: error estándar de la media. Vif: Volumen acumulado de gas. B: Tiempo de colonización. C: Tasa constante de producción de gas.

TABLA 9. DIGESTIBILIDAD DE NUTRIENTES *IN VITRO* Y pH.

Aditivo	Dosis (µl/0.5g MS)	pH a diferentes horas						Digestibilidad, g	
		2	4	8	12	24		MS	MO
Control	0	7.09cdefgh	6.92ij	6.97de	7.20bcde	7.04def		491.43ab	480.45ab
Al	1	6.97hi	6.95ghij	6.92e	7.01de	6.97ef		471.78abc	437.24abcde
	3	6.99ghi	6.92ij	6.96e	7.00de	6.96ef		362.28ef	334.54de
	5	6.98hi	6.93ij	6.97e	7.02de	6.98ef		460.89abcde	423.69abcde
ASI	1	6.99ghi	6.90j	6.92e	6.97e	6.95f		514.27a	505.83a
	3	6.95i	6.94hij	6.92e	7.04de	6.96f		404.36bcdef	384.96bcde
	5	7.01ghi	7.20bcde	7.01de	7.19bcde	7.26cd		371.73cdef	350.90cde
AH	1	7.06defghi	7.21bcde	6.99de	7.09cde	7.24cde		464.33abcde	327.09e
	3	7.03fghi	7.25abc	7.02de	7.13cde	7.04def		399.70bcdef	402.99abcde
	5	7.03fghi	7.29ab	7.02de	7.07de	7.40bc		376.05cdef	375.50bcde
AM	1	7.04efghi	7.09cdefghi	7.01de	7.15bcde	7.36bc		353.76f	451.26abcd
	3	7.04efghi	7.04efghij	7.01de	7.10cde	7.40bc		421.72abcdef	392.75abcde
	5	7.02ghi	7.06defghij	7.05de	7.11cde	7.46bc		416.69abcdef	362.53bcde
BC	1	7.02ghi	7.02fghij	6.99de	7.15bcde	7.35bc		438.77abcef	414.07abcde
	3	7.17abcdef	7.13bcdefg	7.16cd	7.29bcd	7.60b		431.30abcdef	414.46abcde
	5	7.12bcdefg	7.13bcdef	7.37ab	7.04de	7.62ab		472.16abc	463.62abc
MSA	1	7.21abc	7.12bcdefg	7.40ab	7.11cde	7.60800b		443.65abcdef	422.88abcde
	3	7.17abcde	7.04efghij	7.35abc	7.17bcde	7.60b		446.60abcdef	431.18abcde
	5	7.29a	7.40a	7.54a	7.61a	7.89a		466.00abcd	453.94abc
MCA	1	7.24ab	7.23abcd	7.34bc	7.39abc	7.61ab		405.24bcdef	386.44bcde
	3	7.18abcd	7.15bcdef	7.31bc	7.44ab	7.49bc		368.18def	344.91cde
	5	7.20abc	7.11cdefgh	7.33bc	7.24bcde	7.57b		400.93bcdef	380.28bcde
EEM		0.02626093	0.03329073	0.03702456	0.05848543	0.05284110		19.678239	22.815940
Valor P		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001

A,b Medias dentro de una columna seguida por la misma letra no son significativamente diferentes en P=0.05. MS: materia seca, MO: materia orgánica, pH, Control: Dieta testigo, Al: Dieta con 1, 3 y 5 % de extracto de *Albizia lophanta*, ASI: Dieta con 1, 3 y 5 % de aceite de sacha inchi. AH: Dieta con 1, 3 y 5 % de extracto de *Acacia hayesii*, AM: Dieta con 1,3 y 5 % de extracto de *Acacia melanoxylon*, BC: Dieta con 1, 3 y 5 % de extracto de baba de cacao, MSA: Dieta con 1,3 y 5 % de la mezcla de extractos sin el aceite de sacha inchi, MCA: Dieta con 1,3 y 5 % de la mezcla de los extractos más el aceite de sacha inchi, EEM: error estándar de la media.

5.2. DISCUSIÓN

5.2.1. Producción de gas, metano y CO2 *in vitro*.

En la presente investigación al adicionar aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) y extracto de *Albizia lophanta* en cantidades bajas (1 µl/0.50g MS) respectivamente, muestran un efecto positivo disminuyendo la producción de gas y metano. En cuanto al efecto encontrado en la dieta con extracto de *Albizia lophanta* se dio probablemente a la presencia de compuestos secundarios como taninos y fenoles totales como mencionan Wischer et al. (2013). La característica principal de los taninos es su capacidad para formar complejos reversibles con las proteínas y carbohidratos (Orlandi *et al*., 2015). Esto podría disminuir la degradabilidad de algunos nutrientes de la dieta, inhibir la actividad enzimática, reducir las poblaciones de protozoarios o de bacterias celulolíticas y en consecuencia disminuir la producción de metano corroborando con lo mencionado por Rodríguez et al. (2014). Mientras que el efecto encontrado en la dieta con adición de Sacha inchi puede deberse a los compuestos activos que contienen los aceites esenciales como los terpenoides que tienen acción contra bacterias metanógenas inhibiendo su crecimiento (Delaquis *et al*., 2002). Además, Calsamiglia et al. (2007) señala que la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados, reduce la proporción de acetato e incrementa la de propianato disminuyendo la metanogénesis.

5.2.2. Digestibilidad de nutrientes *in vitro* y pH.

La mejor digestibilidad se observó en la dieta con Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) a dosis de 1 µl/0.50g MS), este resultado se dio probablemente a los efectos positivos que tiene la inclusión de aceites esenciales sobre la digestibilidad del alimento como lo menciona Yang et al. (2007) que se dan por dos razones; primero, se reduce la degradación de la proteína en el rumen al inhibir la proliferación de bacterias productoras de nitrógeno amoniacal o proteolíticas, y segundo, reduce la degradación

de almidones como respuesta a la inhibición de microorganismos amilolíticos, favoreciendo en cantidad el flujo de estos dos nutrientes al intestino. Sin embargo, dosis altas de aceites esenciales decrecen la digestibilidad de MS, atribuible esto a la disminución de la digestibilidad de la fibra a nivel ruminal Yang et al. (2014). Por otra parte, los extractos de plantas leguminosas presentaron una menor digestibilidad. Kozloski et al. (2012) reporta que las leguminosas tienen altas concentraciones de taninos condensados (TC) los cuales tienen alta afinidad por las proteínas, carbohidratos y otros constituyentes de las plantas, afectando notablemente la digestibilidad de los nutrientes.

El pH ruminal más óptimo se presentó en dieta con ASI a dosis de 1 µl/0.50g MS (Tabla 9) probablemente este resultado se debe a que los aceites esenciales se encuentran en un estado no disociado y por lo tanto en forma hidrofóbica (Calsamiglia *et al*., 2010). Además, Benchaar et al. (2007) reporta que los aceites esenciales en un pH ligeramente ácido interactúan de forma más fácil con las membranas microbianas y por tanto modifican la población ruminal, la proporción y la producción de AGVs que impacta sobre los perfiles de producción de metano.

CAPÍTULO VI

6.1. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de esta investigación podemos concluir que la adición de aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) 1% y extracto de *Albizia lophanta* 1%, mejora la digestibilidad, estabiliza el pH y reduce la emisión de gases de efecto invernadero.

6.2. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Abdullah. M., Farghaly. A and Youssef. I. (2018). Effect of Feeding Acacia Nilotica Pods to Sheep on Nutrient Digestibility, Nitrogen Balance, Ruminal Protozoa and Rumen Enzymes Activity. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 102(3): 662–69. DOI: 10.1111/jpn.12874

Raygoza. L., Reyes. M., and García. L. (2014). Aceites esenciales modificadores de perfiles de fermentación ruminal y mitigación de metano en rumiantes: Revisión. Revista mexicana de ciencias pecuarias, 5(1), 25-47.

Arteaga. Y. (2017). Estudio Del Desperdicio Del Mucilago De Cacao En El Cantón Naranjal (Provincia Del Guayas). ECA sinergia 4: 49–59. http://revistas.utm.edu.ec/index.php/ECASinergia/article/view/149/119.

Barros. S. (2007). The Genus Acacia, Multipurpose Species. Ciencia e Investigacion Forastal 5: 1–26. http://biblioteca.infor.cl/DataFiles/26485.pdf

Ávila. G., Kozloski. T., Orlandi. M.,Mezzomo. P and Stefanello. S. (2015). Impact of a Tannin Extract on Digestibility, Ruminal Fermentation and Duodenal Flow of Amino Acids in Steers Fed Maize Silage and Concentrate Containing Soybean Meal or Canola Meal as Protein Source. Journal of Agricultural Science 153(5): 943–53. DOI: 10.1017/S0021859615000064

Beauchemin. K., Kreuzer. M., Mara. F and McAllister. T. (2008). Nutritional Management for Enteric Methane Abatement: A Review. Australian Journal of Experimental Agriculture 48(1–2): 21–27. DOI: 10.1071/EA07199

Benchaar. A., Chaves. V., Fraser. G., Wang. Y., Beauchemin. K and McAllister. T. (2007). Effects of Essential Oils and Their Components on in Vitro Rumen Microbial Fermentation.

Bernier. M., Undi. J., Plaizier. C., Wittenberg. K., Donohoe.G and Ominski. K. (2012). "Impact of Prolonged Cold Exposure on Dry Matter Intake and Enteric Methane Emissions of Beef Cows Overwintered on Low-Quality Forage Diets with and without Supplemented Wheat and Corn Dried Distillers' Grain with Solubles. Canadian Journal of Animal Science 92(4): 493–500. http://pubs.aic.ca/doi/abs/10.4141/cjas2012-040.

Bule. P., Pinares. V., Alves. V., Carvalho. A., Prates. J., Ferreira. L., Smith. S., and Fontes. C. (2018). Higher Order Scaffoldin Assembly in Ruminococcus Flavefaciens Cellulosome Is Coordinated by a Discrete Cohesin-Dockerin Interaction. Scientific Reports 8(1): 1–14. DOI:10.1038/s41598-018-25171-8

Calsamiglia. S., Busquet. P., Cardozo. L and Ferret. A. (2007). Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. Journal of Dairy Science 90(6): 2580–95. http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030207700693.

Calsamiglia. S., Ferret.A ., Reynolds. C., Kristensen. N and Vuuren. A. (2010). Strategies for Optimizing Nitrogen Use by Ruminants. Animal 4(7): 1184–96. DOI: 10.1017/S1751731110000911

Castaño. D., Valencia. M., Murillo. E., Mendez. J and Joli. J. (2012). Fatty Acid Composition of Inca Peanut (Plukenetia Volúbilis Linneo) and Its Relationship with Vegetal Bioactivity. Revista Chilena de Nutricion 39(11): 45–52. DOI: 10.4067/S0717-75182012000100005

Chaves. A., Yang. M., Hristov. A., McAllister. T and Benchaar. C. (2007). "Effects of Essential Oils on Proteolytic , Deaminative and Methanogenic Activities of Mixed Ruminal Bacteria: 117–22.

Cortés. J., Moreno. M., Pabón., Kreuzerd A., Hesse. H and Carulla. J. (2009). Effects of Purified Condensed Tannins Extracted from Calliandra, Flemingia and Leucaena on Ruminal and Postruminal Degradation of Soybean Meal as Estimated in Vitro. Animal Feed Science and Technology 151(3–4): 194–204. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2009.01.015.

Delaquis. P., Stanich. K., Girard. B and Mazza. G. (2002). Antimicrobial Activity of Individual and Mixed Fractions of Dill , Cilantro , Coriander and Eucalyptus Essential Oils. International Journal of Food Microbiology 74: 101–109.

DeRamus. H., Terry. A., Dean. C., Giampola. D and Dickison. P. (2003). "Methane Emissions of Beef Cattle on Forages. Journal of Environment Quality 32(1): 269. https://www.agronomy.org/publications/jeq/abstracts/32/1/269. DOI: 10.2134/jeq2003.2690.

Dhimana. S., Shresthad. N., Davida. A., Basotraa. N., Johnsonf. G., Bhupinder. S., Gadhamshetty. V and and Rajesh. K. (2018). Producing Methane, Methanol and Electricity from Organic Waste of Fermentation Reaction Using Novel Microbes. Bioresource Technology 258(January): 270–78. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.128.

Dorman. H and Perry. M. (2000). Antimicrobial Agents from Plants : Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils. 308–16.

Duval. S and McEwan. N. (2008). Plant Extracts to Manipulate Rumen Fermentation. 147: 8–35. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2007.09.007

Evans. J and Scott. A. (2000). "Effects of Thymol on Ruminal Microorganisms." 41: 336–40. DOI: 10.1007/s002840010145

Garcia. A., Gutierrez. E., Mora. M and Casado. F. (2003). Interaction of Tocopherols and Phenolic Compounds with Membrane Lipid Components : Evaluation of Their Antioxidant Activity in a Liposomal Model System. 72: 2337–60. DOI: 10.1016/S0024-3205(03)00120-6

Garmendia. F., Pando. R and Ronceros G. (2011). efecto del aceite de sacha inchi (*Plukenetia volúbilis*) sobre el perfil lipídico en pacientes con hiperlipoproteinemia." Rev Peru Med Exp Salud Publica 28(4): 628–32.

Goel. G., Mamta. R., Vikas. B and Kumar. P. (2015). "Anaerobic Degradation of Tannins in *Acacia Nilotica* Pods by Enterococcus Faecalis in Culture with Ruminal Microbiota." The Journal of General and Applied Microbiology 61(1): 31–33. https://www.jstage.jst.go.jp/article/jgam/61/1/61_31/_article.

Guo. Y., Liu. J., Zhu. Y., Denman. S and McSweeney. C. (2008). Effect of Tea Saponin on Methanogenesis, Microbial Community Structure and Expression of McrA Gene, in Cultures of Rumen Micro-Organisms. Letters in Applied Microbiology 47(5): 421–26. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2008.02459.x

Gutiérrez. L., Lina. M and Jiménez. A. (2011). Chemical Composition of Sacha Inchi (*Plukenetia Volubilis L*.) Seeds and Characteristics of Their Lipid Fraction. Grasas y Aceites 62(1): 76–83. DOI: 10.3989/gya044510

Hassanat. F and Chaouki. B. (2013). Assessment of the Effect of Condensed (*Acacia* and Quebracho) and Hydrolysable (Chestnut and Valonea) Tannins on Rumen Fermentation and Methane Production in Vitro. Journal of the Science of Food and Agriculture 93(2): 332–39. DOI: 10.1002/jsfa.5763

Hatew. B., Stringano. E., Mueller. I., Hendriks. W., Hayot. C., Smith. L and Pellikaan. W. (2016). Impact of Variation in Structure of Condensed Tannins from Sainfoin (Onobrychis Viciifolia) on in Vitro Ruminal Methane Production and Fermentation Characteristics. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 100(2): 348–60. DOI: 10.1111/jpn.12336

Hellwing. A., Peter. L., Mogensen. L and Mogens. V. (2018). Growth, Feed Intake, Methane Emissions and Carbon Footprint from Holstein Bull Calves Fed Four Different Rations. Livestock Science 214: 51–61. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.05.003.

Hess. H., Mera. M., Tiemann. T., Lascano. C and Kreuzer. M. (2008). In Vitro Assessment of the Suitability of Replacing the Low-Tannin Legume Vigna Unguiculata with the Tanniniferous Legumes Leucaena Leucocephala, Flemingia Macrophylla or Calliandra Calothyrsus in a Tropical Grass Diet. Animal Feed Science and Technology 147(1–3): 105–15. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2007.09.012

Hosoda. K., Kuramoto. K., Eruden. B., Nishida.T and Shioya. S. (2006). The Effects of Three Herbs as Feed Supplements on Blood Metabolites, Hormones, Antioxidant Activity, IgG Concentration, and Ruminai Fermentation in Holstein Steers. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 19(1): 35–41. DOI: 10.5713/ajas.2006.35

Jayanegara. A., Norvsambuu. T., Harinder. P and Klaus. B. (2009). Tannins Determined by Various Methods as Predictors of Methane Production Reduction Potential of Plants by an in Vitro Rumen Fermentation System. Animal Feed Science and Technology 150(3–4): 230–37. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2008.10.011

Johnson. J., Franzluebbers. A., Lachnicht. L and Donald. C. (2007). Agricultural Opportunities to Mitigate Greenhouse Gas Emissions. Environmental Pollution 150(1): 107–24. DOI: 10.1016/j.envpol.2007.06.030

Khiaosa-Ard. R., Bryner. S., Scheeder. M., Wettstein. H., Leiber. F., Kreuzer. M and Soliva. C. (2009). "Evidence for the Inhibition of the Terminal Step of Ruminal α-Linolenic Acid Biohydrogenation by Condensed Tannins." Journal of Dairy Science 92(1): 177–88. http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030209703236. DOI:10.3168/jds.2008-1117

Kim. E., Kim. C., Min. K and Lee. S. (2012). Effects of Plant Extracts on Microbial Population, Methane Emission and Ruminal Fermentation Characteristics in In Vitro. Asian-Australasian journal of animal sciences 25(6): 806–11. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4093095&tool=pmcentrez&rendertype=abstract. DOI: 10.5713/ajas.2011.11447

Kozloski. G., Härter. C., Hentz. F., Ávila. S., Orlandi. T., and Stefanello. C. (2012). Intake, Digestibility and Nutrients Supply to Wethers Fed Ryegrass and Intraruminally Infused with Levels of Acacia Mearnsii Tannin Extract. Small Ruminant Research 106(2–3): 125–30. http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.06.005.

Kurniawati. A., Widodo. W., Artama. W and Yusiati. L. (2018). Study of Local Herb Potency as Rumen Modifier: The Effect of Red Ginger (Zingiber Officinale

Var.Rubrum) on Parameters of Ruminal Fermentation *in vitro*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 119(1). DOI:10.1088/1755-1315/119/1/012058

Lee. S., Hyun. J., Jung. H., Han. J and Jeong. H. (2003). Screening of Medicinal Plant Extracts for Antioxidant Activity. Life Sciences 73(2): 167–79. DOI:10.1016/S0024-3205(03)00259-5

Liwiński. B., Soliva. C., Machmüller. A and Kreuzer. M. (2002). Efficacy of Plant Extracts Rich in Secondary Constituents to Modify Rumen Fermentation. Animal Feed Science and Technology 101(1–4): 101–14. DOI:10.1016/S0377-8401(02)00139-6

Mejia. L and Arguello. O. (2000). Tecnología Para El Mejoramiento Del Sistema de Producción de Cacao. Corpoica: 1–30. http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/jspui/bitstream/11348/3832/1/220.1.pdf

Min. B., Barry. G., Attwood. T and McNabb. W. (2003). The Effect of Condensed Tannins on the Nutrition and Health of Ruminants Fed Fresh Temperate Forages: A Review. Animal Feed Science and Technology 106(1–4): 3–19. DOI: 10.1016/S0377-8401(03)00041-5

Moss. A., Jouany. J and Newbold. J. (2000). Methane Production by Ruminants : Its Contribution to Global Warming To Cite This Version : Review Article Methane Production by Ruminants : Its Contribution to Global Warming. Annales de zootechnie, INRA/EDP Sciences, 2000, 49 (3), pp.231-253.

Moss. A and Givens. D. (2002). The Effect of Supplementing Grass Silage with Soya Bean Meal on Digestibility, in Sacco Degradability, Rumen Fermentation and Methane Production in Sheep. Animal Feed Science and Technology 97(3–4): 127–43. DOI: 10.1016/S0377-8401(02)00022-6

Naumann. H., Tedeschi. L. Muira. J., Lambert. B and Kothmann. M. (2013). Effect of Molecular Weight of Condensed Tannins from Warm-Season Perennial Legumes on Ruminal Methane Production Invitro. Biochemical Systematics and Ecology 50: 154–62. http://dx.doi.org/10.1016/j.bse.2013.03.050.

Navarro. A., Brien. M., López. S., Bolandb. T., O'Kiely. P. A. (2011). In Vitro Rumen Methane Output of Red Clover and Perennial Ryegrass Assayed Using the Gas Production Technique (GPT). Animal Feed Science and Technology 168(3–4): 152–64. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.091.

Odenyo. A., Osuji. P., Karanfil. O and Adinew. K. (1997). Microbiological Evaluation of Acacia Angustissima as a Protein Supplement for Sheep. Animal Feed Science and Technology 65(1–4): 99–112. DOI: 10.1016/S0377-8401(96)01087-5

Oh. J and Hristov. A. (2016). Effects of Plant-Derived Bio-Active Compounds on Rumen Fermentation, Nutrient Utilization, Immune Response, and Productivity of Ruminant Animals. ACS Symposium Series 1218: 167–86. DOI: 10.1021/bk-2016-1218.ch011

Orlandi. T., Kozloski. G., Alves. T., Mesquita. F and Ávila. S. (2015). Digestibility, Ruminal Fermentation and Duodenal Flux of Amino Acids in Steers Fed Grass Forage plus Concentrate Containing Increasing Levels of Acacia Mearnsii Tannin Extract. Animal Feed Science and Technology 210: 37–45. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.012.

Ortiz. K., and Álvarez. R. (2015). Efecto Del Vertimiento De Subproductos Del Beneficio De Cacao (*Theobroma Cacao L.*) Sobre Algunas Propiedades Químicas Y Biológicas En Los Suelos De Una Finca Acaotera, Municipio De Yaguará (Huila, Colombia). Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural 19(1): 65–84. http://200.21.104.25/boletincientifico/downloads/Boletin(19)1_5.pdf.

Pastuña. A., López. O., Debut. A., Vaca. A., Rodríguez. E., Roxana. V., Gonzalez. V., González. M and Tapia. F. (2016). Microencapsulación de Aceite de Sacha Inchi (Plukenetia Volubilis L.) Mediante Secado Por Aspersión. 45(3): 422–37.

Pecka-Kiełb. E., Zawadzki. W., Zachwieja. A., Michel. O., Mazur. M and Miśta. D (2015). In Vitro Study of the Effect of Corn Dried Distillers Grains with

Solubles on Rumen Fermentation in Sheep. Polish Journal of Veterinary Sciences 18(4): 751–58. DOI: 10.1515/pjvs-2015-0097

Pinares-Patiño. C., Ulyatt. M., Lassey. K., Barry. T and Holmes. C. (2003). Persistence of Differences between Sheep in Methane Emission under Generous Grazing Conditions. Journal of Agricultural Science 140(2): 227–33. DOI: 10.1017/S0021859603003071

Prasetiyono. B., Subrata. A., Tampoebolon. B and Widiyanto. S. (2018). In Vitro Ruminal Degradability of Soybean Meal Protein Protected with Natural Tannin. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 119(1). DOI: 10.1088/1755-1315/119/1/012016

Purcell. P., Brien. M., Navarro. A., Boland. T., McEvoy. M., Grogans. D and Kiely. P., (2012). In Vitro Rumen Methane Output of Perennial Ryegrass Varieties and Perennial Grass Species Harvested throughout the Growing Season. Grass and Forage Science 67(2): 280–98. DOI: 10.1111/j.1365-2494.2011.00845.x

Rodríguez. R., González. N., Ramírez. A., Gómez. S., Moreira. O., Sarduy. L and Medina. Y. (2014). Tannins of Tropical Shrub-like Legumes: Their Effect on Protein Protection of Soybean Meal. Cuban Journal of Agricultural Science 48(3): 247–52. https://www.researchgate.net/publication/277010022_Tannins_of_tropical_shrub-like_legumes_Their_effect_on_protein_protection_of_soybean_meal

Salcedo. G., (2000). Aprovechadas Bajo Pastoreo Rotacional, En La.” Investigacion Agropecuaria 15(3): 4–5. http://www.inia.es/gcontrec/pub/SALCE_1161094277406.pdf

Salem. A., (2012). Oral Administration of Leaf Extracts to Rumen Liquid Donor Lambs Modifies in Vitro Gas Production of Other Tree Leaves. Animal Feed Science and Technology 176(1–4): 94–101. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.011.

Slanac. A., Kucseva. C., Balbuena. O and Rochinotti. D., (2013). Notatum a Diferentes Edades de Rebrote y Estaciones Del Año. Revista Veterinaria 24: 119–23.

Sun. X., Hoskin. S., Muetzel. S., Molano. G and Clark. H. (2011). Effects of Forage Chicory (Cichorium Intybus) and Perennial Ryegrass (Lolium Perenne) on Methane Emissions in Vitro and from Sheep. Animal Feed Science and Technology 166–167: 391–97. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.027.

Tavendale. M., Meagher. L., Pacheco. D., Walker. N., Attwood. G and Tavendale. S., (2005). Methane Production from in Vitro Rumen Incubations with Lotus Pedunculatus and Medicago Sativa, and Effects of Extractable Condensed Tannin Fractions on Methanogenesis. Animal Feed Science and Technology 123–124 Pa: 403‑19. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2005.04.037

Taweela. H., Tas. B., Smitb. H., Elgersmab. A., Dijkstra. J and Tamminga. S. (2005). Effects of Feeding Perennial Ryegrass with an Elevated Concentration of Water-Soluble Carbohydrates on Intake, Rumen Function and Performance of Dairy Cows. Animal Feed Science and Technology 121(3–4): 243–56. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2005.02.024

Vallejo. C., Ocampo. R., Morales. W., Soria. R., Vera. J and Cedeño. C. (2016). Utilización Del Mucílago de Cacao, Tipo Nacional y Trinitario, En La Obtención de Jalea." Revista Espam ciencia 7(1): 51–58.

Vargas. J., Cárdenas. E and Carulla. J., (2012). Emisión de Metano Entérico En Rumiantes En Pastoreo. Archivos de zootecnia 61: 51–66.

Waghorn. G., and Hegarty. R. (2011). Lowering Ruminant Methane Emissions through Improved Feed Conversion Efficiency. Animal Feed Science and Technology 166–167: 291–301. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.019.

Weimer. P. (1998). Manipulating Ruminal Fermentation: A Microbial Ecological Perspective 1. Journal of Animal Science 76(12): 3114–22. DOI:10.2527/1998.76123114x

Wischer. G., Boguhn. J., Steinga. H., Schollenberger. M and Rodehutscord. M. (2013). Effects of Different Tannin-Rich Extracts and Rapeseed Tannin Monomers on Methane Formation and Microbial Protein Synthesis in Vitro. Animal 7(11): 1796–1805. DOI: 10.1017/S1751731113001481

Yang. W., Benchaar. C., Ametaj. B., Chaves. A., He. G and McAllister. T. (2007). Effects of Garlic and Juniper Berry Essential Oils on Ruminal Fermentation and on the Site and Extent of Digestion in Lactating Cows. Journal of Dairy Science 90(12): 5671–81. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2007-0369.

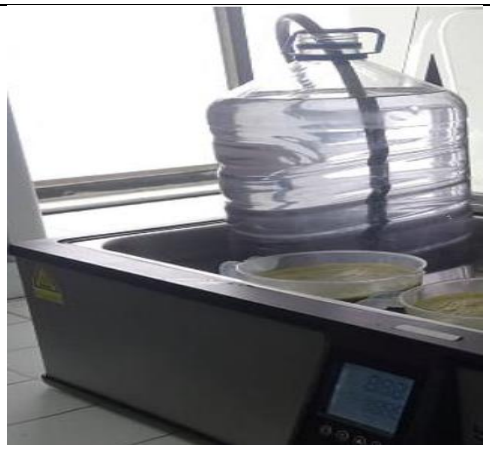
Yang. W., Ametaj. Z., Benchaar. C and Beauchemin. K. (2014). Dose Response to Cinnamaldehyde Supplementation in Growing Beef Heifers : Ruminal and Intestinal Digestion. : 680–88. DOI: 10.2527/jas.2008-1652

6.3. ANEXOS

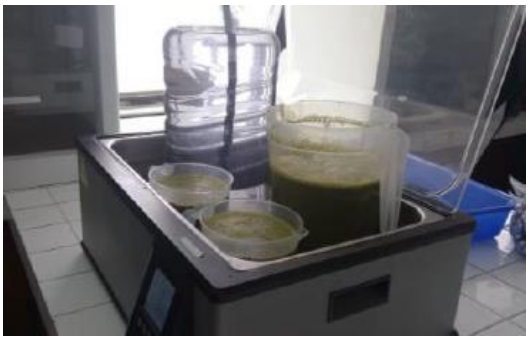
ANEXO 1. PREPARACIÓN DE EXTRACTOS

Recolección de hojas frescas (*Albizia lophanta*)	Semillas de sacha inchi (*Plukenetia volubilis*)
Incubación y filtración de los extractos	Obtención de los extractos

ANEXO 2. PREPARACIÓN DE SALIVA ARTIFICIAL

	
Preparación de una solución búfer	Flujo continuo de CO2 en baño maría a una temperatura de 39.5 °C.

ANEXO 3. EXTRACCIÓN DE LÍQUIDO RUMINAL

	
Colocación de líquido ruminal en fundas para transportar al laboratorio.	Colocación de líquido ruminal en baño María.

ANEXO 4. PRODUCCIÓN DE GAS

Peso de muestra 0,500 g MS	Adición de extractos vegetales con las micropipetas
Incubación de las botellas en la estufa a 39.5 ºC	medición de la presión de gas y el volumen

CAPÍTULO VII
PROPUESTA

7.1. DATOS INFORMATIVOS

Tema: Recomendar la adición de extracto de *Albizia lophanta* y aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) a dosis de 1 µl/0,500 g MS respectivamente en la dieta fibrosa de bovinos para mejorar la digestibilidad ruminal permitiendo aprovechar de mejor manera los carbohidratos y la proteína, estabiliza el pH interactúando de forma más fácil con las membranas microbianas y por tanto modificando la población ruminal y por ende reduce la emisión de gases de efecto invernadero.

7.2. ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

Calsamiglia et al. (2010) manifiesta que los científicos se han interesado en evaluar alternativas para controlar la población microbiana y modular la fermentación ruminal mediante el uso de ácidos orgánicos, extractos de plantas, pro bióticos entre otros. Los extractos de las plantas contienen compuestos secundarios como taninos, saponinas y aceites esenciales que pueden modificar la fermentación ruminal sin dejar residuos Kim et al. (2012). Siendo una alternativa para disminuir las emisiones entéricas de metano y mejorar el metabolismo en los rumiantes (Naumann *et al*., 2013).

Goel et al. (2015) indica que los taninos son compuestos flavonoides solubles en agua que se encuentran en los tejidos de vegetales como las acacias que son leguminosas de países tropicales con un alto contenido de taninos y pueden ser utilizados en la alimentación. Por otra parte, Wischer et al. (2013) señala que, los taninos forma complejos con carbohidratos, proteínas e incluso con enzimas, lo que provoca una reducción en la biodegradación ruminal. Sin embargo, los rumiantes han desarrollado un mecanismo de adaptación contra taninos a través de un ecosistema microbiano que habita en el tracto gastrointestinal dando un efecto positivo sobre la energía y la utilización de la proteína en el rumen (Hassanat y Benchaar, 2013).

7.3. JUSTIFICACIÓN

La adición de *Albizia lophanta* y aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) en cantidades bajas (1% respectivamente) en la dieta del ganado bovino pueden modificar la fermentación ruminal *in vitro* disminuyendo la producción total de gas. Este efecto se debe probablemente a la presencia de compuestos secundarios como taninos que

tienen la capacidad de formar complejos reversibles con las proteínas y por lo tanto disminuir la degradabilidad de algunos nutrientes de la dieta, inhibir la actividad enzimática, disminuir las poblaciones de protozoarios o de bacterias celulíticas y en consecuencia disminuir la producción de metano un potente gas de efecto invernadero. Mientras que el efecto del Sacha inchi se debe a los compuestos activos que contienen los aceites esenciales como los terpenoides que tienen acción contra bacterias ruminales (optimizando la utilización de la proteína). Otra razón para disminuir el metano es biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados, reduce la proporción de acetato e incrementar la de propionato. Además, la adición de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga disminuye la metanogénesis porque se convierte en una alternativa metabólica para el hidrógeno.

Este proyecto sugiere adicionar a una dieta balanceada el 1% de extracto de *Albizia lophanta* y aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) para disminuir la producción de gases de efecto invernadero que representa pérdidas económicas para el productor, ya que una disminución de metano del 25 % en los rumiantes puede resultar en incrementos de 1 litro de leche al día en vacas altas productoras, y de 75 g/dia de incremento de peso en bovinos productores de carne. Además, mejora la digestibilidad y estabiliza el pH. Por tanto, se justifica el uso de extracto de *Albizia lophanta* y aceite de sacha inchi a dosis bajas 1% respectivamente.

7.4. OBJETIVOS

7.4.1. Objetivo general

Evaluar la influencia de extractos vegetales y aceite de Sacha inchi sobre la fermentación ruminal *in vitro*.

7.4.2. Objetivos específicos

- Determinar los límites de inclusión (1, 3, 5 µl/ 0.5 g de dieta) de extractos vegetales (*Albizia lophanta, Acacia hayesii, Acacia melanoxylon,* mucilago de *Theobroma cacao*) y aceite de *Plukenetia volubilis*.
- Analizar el proceso de fermentación ruminal *in vitro* de acuerdo a cada extracto vegetal y aceite de Sacha inchi.

7.5. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

Este proyecto es totalmente factible en lo económico, ambiental y social, al permitir aprovechar el uso de extractos de plantas no convencionales que tienen compuestos secundarios para mejorar la fermentación ruminal y disminuir los gases efecto invernadero que producen los bovinos. Además, reducir los costos de producción y mejorar el rendimiento productivo de los ganaderos.

7.6. FUNDAMENTACIÓN

La necesidad de mejorar la productividad ganadera y disminuir los gases de efecto invernadero ha llamado la atención de muchos investigadores a buscar alternativas para suplir estas necesidades sin dejar residuos en el producto final como la leche y la carne que pongan en riesgo la salud humana, la utilización de productos naturales como extractos de plantas no convencionales es una alternativa ya que gracias a sus compuestos secundarios optimizan el uso de forrajes por parte del animal mejorando la producción ganadera, por otra parte la demanda de alimentos de origen animal de leche y carne se han incrementado desde hace varios años a nivel mundial, por lo cual es necesario desarrollar tecnologías que ayuden a los productores ganaderos a mejorar eficientemente sus explotaciones ganaderas y poder consolidarse en el mercado nacional e internacional garantizando la seguridad alimentaria del consumidor. Además, el uso de alimentos no tradicionales y propios de nuestro medio es una ventaja ya que no compite con la alimentación humana.

7.7. METODOLOGÍA

- Inclusión de extractos vegetales y aceite de *Plukenetia volubilis* a la dieta.
- Evaluación de digestibilidad de Materia seca y Materia orgánica.
- Determinación de fermentación y producción de gas.

7.8. ADMINISTRACIÓN

La administración de esta investigación estará a cargo de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.

7.9. PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

Se recomienda realizar la evaluación del proyecto para que los resultados sean confiables, y los mismos publicados en beneficio de los productores de nuestro país.