

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



TRABAJO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

TEMA:

“COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL Y FUNCIÓN RUMINAL EN TOROS DE ENGORDE ALIMENTADOS CON DIETAS A BASE DE CASCARILLA DE CACAO Y ACEITE VEGETAL”.

Autor: Carlos Alberto Guishca Cunuhay.

Tutor: Ing. Zoot. Marcos Antonio Barros Rodríguez, PhD.

CEVALLOS-ECUADOR

2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

“COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL Y
FUNCIÓN RUMINAL EN TOROS DE ENGORDE ALIMENTADOS CON DIETAS
A BASE DE CASCARILLA DE CACAO Y ACEITE VEGETAL”.

REVISADO POR:

Ing. Zoot. Marcos Antonio Barros Rodríguez, PhD.

TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, Carlos Alberto Guishca Cunuhay, portador de la cedula de identidad número: 050367112-5, libre y voluntariamente enuncio que el Informe Final del Proyecto de Investigación titulado: “COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL Y FUNCIÓN RUMINAL EN TOROS DE ENGORDE ALIMENTADOS CON DIETAS A BASE DE CASCARILLA DE CACAO Y ACEITE VEGETAL” es genuino, original o único y personal. En dicha virtud, expreso que el contenido plasmado es de mi sola responsabilidad legal y académica, con excepción en la parte que se indican las fuentes de información examinadas.

Atentamente. -



Carlos Alberto Guishca Cunuhay

CI: 050367112-5

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Al presentar el Informe final del Proyecto de Investigación titulado: “COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL Y FUNCIÓN RUMINAL EN TOROS DE ENGORDE ALIMENTADOS CON DIETAS A BASE DE CASCARILLA DE CACAO Y ACEITE VEGETAL” autorizo a la institución (Universidad Técnica de Ambato), para que este documento esté disponible para su lectura, consulta o procesos de investigación, según las normas de la Universidad.

Cedo mis derechos de forma patrimonial de mi proyecto, con fin de transmisión pública mediante las regulaciones de la Institución, siempre y cuando la reproducción no suponga ganancias económicas potenciales.

Atentamente. -



Carlos Alberto Guishca Cunuhay

CI: 050367112-5

AUTOR

APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

FECHA

03/08/2022

Ing. Mg. Marco Pérez.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

03/08/2022

Ing. Gonzalo Aragadbay Yungán. PhD

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

03/08/2022

Dr. Mg. Gerardo E. Kelly Alvear

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación se lo dedico a mis padres Enrique Guishca y Clemencia Cunuhay, mi hermana Verito, sobrina Fernanda y cuñada Nelly quienes con su constante apoyo me brindaron las herramientas necesarias para la finalización de este proyecto

A la memoria de mi hermano Edison, quien fue un pilar fundamental en mi vida. Con sus consejos y valores inculco en mí su ejemplo de trabajo, perseverancia, honestidad, valentía y a luchar por mis sueños sin importar las adversidades que se presentasen en el trayecto

Carlos Alberto Guishca-Cunuhay

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por su guía. A mi familia, de manera especial a mis padres quienes con su ejemplo y constante apoyo me guiaron durante mi vida estudiantil y el culmino de esta etapa

Agradezco a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, al Dr. Gary Meza, Ing. David Zapatier por el apoyo brindado en la elaboración de la presente investigación

Agradezco a la empresa QUICORNAC S.A. por su valioso aporte para la realización de la presente investigación con la donación de torta de semilla de maracuyá

Agradezco a los docentes de la Universidad Técnica de Ambato por compartir sus conocimientos y servirme de guía para mi formación profesional

De manera especial, agradezco al Dr. Marcos Antonio Barros Rodríguez, esposa y familia por su guía y apoyo constante en la realización del presente trabajo en calidad de tutor

Muchas Gracias

Carlos Alberto Guishca-Cunuhay

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
CAPITULO I.....	3
1. INTRODUCCIÓN	3
CAPITULO II.....	4
2. MARCO TEORICO.....	4
2.1. Antecedentes Investigativos	4
2.1.1. Producción de rumiantes	4
2.1.2. Ganadería bovina en el ecuador: antecedentes y actualidad	4
2.1.3. Fermentación ruminal	7
2.1.4. Gases de efecto invernadero (GEI)	7
2.1.5. Metanogénesis ruminal: producción de CH ₄	8
2.1.6. El dióxido de carbono (CO ₂) y su impacto medioambiental	8
2.1.7. ¿Cómo solucionar las emisiones de GEI en los rumiantes?.....	8
2.1.8. Metabolitos secundarios.....	9
2.1.9. Cacao (<i>Teobromina cacao</i>).....	11
2.1.10. Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	13
2.2. Hipótesis y objetivos	15
2.2.1. Hipótesis	15
2.2.2. Objetivos.....	15
2.2.2.1. Objetivo general	15
2.2.2.2. Objetivos específicos.....	15
CAPITULO III.....	16
3. METODOLOGÍA	16

3.1.	Materiales	16
3.2.	Métodos	17
3.2.1.	Ubicación del experimento	17
3.2.2.	Características del lugar	17
3.2.3.	Animales	17
3.2.4.	Alimentación	17
3.2.5.	Factores de estudio	17
3.2.6.	Diseño experimental	20
3.2.7.	Variables respuesta	20
CAPITULO IV		24
4.	RESULTADOS, DISCUSIÓN Y VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS	24
4.1.	Resultados	24
4.1.1.	Cinética de degradación ruminal <i>in vitro</i> y DIVMS	24
4.1.2.	Producción de gas <i>in vitro</i> de la MS	25
4.1.3.	Comportamiento productivo	26
4.1.4.	Características de la canal	27
4.2.	Discusión	28
4.2.1.	Cinética de degradación ruminal <i>in vitro</i> y DIVMS	28
4.2.2.	Producción de gas <i>in vitro</i> de la MS	29
4.2.3.	Comportamiento productivo	30
4.2.4.	Características de la canal	31
4.3.	Verificación de la hipótesis	31
CAPITULO VI		32
6.1.	CONCLUSIONES	32
7.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	33

8. ANEXOS	47
-----------------	----

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Población de rumiantes en el Ecuador (años 2019 – 2020)	5
Cuadro 2. Producción láctea en el Ecuador	5
Cuadro 3. Composición química de la cascarilla de cacao (% MS), salvo donde se indique lo contrario	12
Cuadro 4. Composición química (g/kg) y concentración de de ácidos grasos (% MS) en semillas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), salvo donde se indique lo contrario.....	14
Cuadro 5. Formulación de dietas (tratamientos).....	18
Cuadro 6. Tratamientos elaborados con base a los requerimientos nutritivos expuestos en la AFRC (1996) para novillitos de terminación tardía y composición química (% MS), salvo donde se indique lo contrario.....	19
Cuadro 7. Cinética de degradación ruminal y digestibilidad <i>in vitro</i> de novillitos alimentados por 120 días con dietas a base de cascarilla de cacao (<i>Teobromina cacao</i>) y aceite vegetal de torta de semillas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	25
Cuadro 8. Producción de gas <i>in vitro</i> de novillitos alimentados por 120 días con dietas a base de cascarilla de cacao (<i>Teobromina cacao</i>) y aceite vegetal de torta de semilla de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	26
Cuadro 9. Comportamiento productivo de novillitos alimentados por 120 días con dietas a base de cascarilla de cacao (<i>Teobromina cacao</i>) y aceite vegetal de torta de semilla de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	27
Cuadro 10. Características de la canal de novillitos alimentados por 120 días con dietas a base de cascarilla de cacao (<i>Teobromina cacao</i>) y aceite vegetal de torta de semilla de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	28

RESUMEN

Se evaluó el comportamiento productivo, características de la canal y la función ruminal en toros de engorde alimentados con dietas a base de cascarilla de cacao y aceite vegetal. Se utilizaron registros de 30 novillitos castrados con 206 ± 23 kg de peso distribuidos al azar en 3 grupos (n=10) provenientes de la empresa Ruminant Feedlot. Las dietas evaluadas consistieron en: T1 [Dieta basal: cubriendo los requerimientos nutricionales para novillitos de terminación tardía según el AFRC (1996) + 15% cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*) + 6% aceite vegetal de torta de semilla de maracuyá (*Passiflora edulis*) (Testigo)], T2 [Dieta basal + 6% aceite vegetal de torta de semilla de maracuyá (*Passiflora edulis*)] y T3 [Dieta basal + 15% cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*)]. La degradación ruminal y digestibilidad *in vitro* de la MS se evaluó con incubadoras Daisy II Ankom y bolsas F57, tamaño de poro 25 μm , las cuales contenían 0.5 g de muestra por tratamiento (n=5) y se incubaron por 0, 4, 12, 24, 36, 48, 72 y 96 horas. El volumen de producción de gas se estimó en frascos de ambar con 100 ml de capacidad nominal y, se utilizó 0.5 g de muestra por tratamiento (n=10). Los datos obtenidos se evaluaron bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA). La cinética de degradación ruminal *in vitro* de la MS fue mayor para la fracción soluble (A) en T1 y menor en T3 ($p < 0,0001$). La tasa de degradación potencial (A+B) y degradación efectiva [(c: 0,02; 0,05 y 0,08)] fueron mayor en T1 ($p < 0,05$). La DIVMS a la hora 48 fue superior en T1, T3 y menor en T2 ($p = 0,0004$). La producción total de gas (B) fue mayor en T2 ($p < 0,0001$). El comportamiento productivo evidencio mayor GDP en T1 y T3 ($p = 0,0019$). El CMST y CMSI fue mayor en T1, T3 y menor en T2 ($p = 0,0142$). La CA (kg/kg) y EA (kg/kg) fue menor y mayor en T2 respectivamente ($p < 0,05$). Las características a la canal reflejaron un mayor RCC (%) para T3 ($p = 0,0032$). El AMLd (cm^2) fue mayor en T1 y T3 ($p < 0,0001$). No obstante, el EGRi fue menor en T1 y T3 ($p = 0,0096$). Bajo las condiciones del presente estudio se concluye que existe respuesta favorable de la cascarilla de cacao sola o combinada con aceite vegetal de torta de semillas de maracuyá.

Palabras clave: subproductos agro-industriales, cascarilla de cacao, ácidos grasos, rendimiento productivo, características de la canal, novillos

ABSTRACT

The productive performance, characteristics of the carcass in ruminal function were evaluated in steers fed with diets based on cocoa bean shell and vegetable oil. Records of 30 castrated steers weighing 206 ± 23 kg were randomly distributed into 3 groups (n=10) from the Ruminant Feedlot. The evaluated diets consisted of: T1 [Basal diet: covering the nutritional requirements for late-finishing steers according to the AFRC (1996) + 15% cocoa bean shell (*Theobromina cacao*) + 6% vegetable oil from passion fruit seed cake (*Passiflora edulis*) (Control)], T2 [Basal diet + 6% vegetable oil from passion fruit seed cake (*Passiflora edulis*)] and T3 [Basal diet + 15% cocoa bean shell (*Theobromine cacao*)]. Ruminal degradation and *in vitro* digestibility of DM was evaluated with Daisy^{II} incubator and F57 bags, pore size 25 μ n, which contained 0.5 g of sample per treatment (n=5) and were incubated for 0, 4, 12, 24, 36, 48, 72 and 96 h. The volume of gas production *in vitro* was estimated in amber bottles with 100 ml of nominal capacity, and 0.5 g of sample was used per treatment (n=10). The data obtained were evaluated under a Completely Random Design (CRD). The *in vitro* rumen degradation kinetics of DM was higher for the soluble fraction (A) in T1 and lower in T3 (p=<0.0001). The rate of potential degradation (A+B) and effective degradation [(c: 0.02; 0.05 and 0.08)] were higher in T1. IVDMD at hour 48 was higher at T1, T3 and lower at T2 (p=0.0004). Total gas production (B) was higher at T2 (p=<0.0001). The productive performance showed higher ADG in T1 and T3 (p=0.0019). The TDMI and IDMI were higher at T1, T3 and lower at T2 (p=0.0142). FC (kg/kg) and FE (kg/kg) were lower and higher at T2 respectively (p=<0.05). Carcass characteristics reflected a higher HCY (%) for T3 (p=0.0032). LdMA (cm²) was higher at T1 and T3 (p=<0.0001). However, the RFT was less in T1 and T3 (p=0.0096). Under the conditions of this study, it is concluded that there is a favorable response of the cocoa bean shell alone or combined with vegetable oil from passion fruit seed cake.

Keywords: agro-industrial by-products, cocoa bean shell, fatty acids, productive performance, carcass characteristics, steers

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

Ecuador se caracteriza por ser un país altamente agrícola, con producción principalmente de banano, cacao, café y flores. Considerándolo a nivel global como el primer productor de cacao, con el 70% de exportación mundial y la producción de una cuantiosa cantidad de residuos (**Intriago et al. 2018**). Por otra parte, la producción de maracuyá ocupa el segundo lugar con 85.000,00 t después de Brasil. La actividad industrial utiliza cerca del 70% de maracuyá producida a nivel nacional con la finalidad de fabricar bebidas y genera gran cantidad de remanentes (cascara y semillas), caracterizados por su valor nutrimental y su potencial empleo en la alimentación de rumiantes (**Sánchez Laíño et al. 2019; Chiriguayo et al. 2021**).

El bajo rendimiento productivo de los bovinos en las regiones tropicales y subtropicales preocupan al productor debido a la baja rentabilidad de los sistemas tradicionales de alimentación (**Núñez-Torres y Rodríguez-Barros, 2019**). El insuficiente aporte nutrimental del forraje hacia los animales refleja la mala productividad (**Barros-Rodríguez et al. 2017**). La oferta de forrajes de mala calidad promueve la producción de gases de efecto invernadero (GEI): [metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂) principalmente] y consecuente pérdida de energía en el animal (**Ku-Vera et al. 2020**).

Todo esto predispone a buscar alternativas en la alimentación de rumiantes y el uso de subproductos derivados de las actividades agrícolas o agro-industriales como fuentes de alimento para los bovinos se presenta como alternativa debido principalmente a: 1) alta disponibilidad, 2) costo reducido, 3) elevado valor nutritivo y 4) capacidad para mitigar GEI como respuesta a la presencia de metabolitos secundarios (**Correddu et al. 2020**).

Bajo estos antecedentes, se plantea la utilización de subproductos derivados de la agro-industria en la alimentación de rumiantes, presentándose la cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*) y aceite vegetal de torta de semillas de maracuyá (*Passiflora edulis*) como alternativa en la formulación de dietas para bovinos bajo un sistema de engorde a corral (Feedlot).

CAPITULO II

2. MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes Investigativos

2.1.1. Producción de rumiantes

La producción de rumiantes a nivel mundial ha crecido de forma radical en los últimos años, debido al constante crecimiento poblacional y consecuente demanda de alimentos de origen animal (carne y leche) (Núñez-Torres y Rodríguez-Barros, 2019). Se estima que entre los años 2000 - 2050 la población mundial de bovinos crecerá de 1,5 billones a 2,6 billones; mientras que la población ovina y caprina ascenderá de 1,7 billones a 2,7 billones de animales (Turk 2016). Debido a esto, se torna preocupante el impacto sobre la superficie destinada al alojamiento de los animales, lo que posiblemente promoverá la invasión de áreas no utilizadas y el posterior deterioro agroforestal y destrucción del hábitat de numerosas especies que cohabitan la fauna, esto para introducir cultivares de pastos que servirán para la alimentación de los animales (De Oliveira *et al.* 2016) y promoverá mayor producción de GEI (Núñez-Torres y Rodríguez-Barros, 2019).

2.1.2. Ganadería bovina en el Ecuador: antecedentes y actualidad

Para el año 2020, la población de rumiantes en el Ecuador fue de 4`847.100 animales, del cual el 89,46% está representada por la ganadería bovina con 4`336.000 bovinos, marcando un ascenso del 0,69% (30.000 animales) con respecto al año 2019 (Cuadro 1) (INEC 2020; INEC 2021a; INEC 2021b).

En Ecuador, la mayor producción láctea se evidencia en la región Sierra, ocupando el segundo y tercer lugar las regiones Amazónica y Costa respectivamente, con un promedio nacional de 5,63 litros/vaca/día (Cuadro 2) (INEC 2021b). Por otra parte, la industria de la carne produce aproximadamente 300 millones de libras de carne bovina anualmente, a partir de alrededor de 1`760.000 cabezas de ganado (Hidalgo Cumbicos *et al.* 2020).

Cuadro 1. Población de rumiantes en el Ecuador (años 2019 – 2020)

ESPECIE	AÑO DE ENCUESTA				Tendencia
	2019		2020		
	Nº ANIMALES	REPRESENTACIÓN PORCENTUAL	Nº ANIMALES	REPRESENTACIÓN PORCENTUAL	
Bovinos	4 306.000,00	89,72%	4 336.000,00	89,46%	+0,69%
Ovinos	465.000,00	9,69%	497.000,00	10,05%	+6,25%
Caprinos	28.391,00	0,59%	14.100,00	0,29%	-50,34%
GENERAL	4 799.391,00	100%	4 847.100,00	100%	+0,98%

Fuente: Elaborado con base en INEC (2019a); INEC (2021a) e INEC (2021b).

Cuadro 2. Producción láctea en el Ecuador

Región	Litros/Vaca/Día
Sierra	7,7
Amazonía	5,4
Costa	3,8
PROMEDIO	5,63

Fuente: Elaborado con base en INEC (2021b).

Los sistemas de producción tradicionales en el Ecuador se caracterizan por ser fundamentalmente extensivos. Sistema que utiliza grandes áreas de superficie y conllevan al deterioro de la biodiversidad y fertilidad del suelo debido a la introducción de pastizales en áreas naturales (bosques) con el propósito de proporcionar alimento e incrementar el número de animales (**Willers *et al.* 2017; McAllister *et al.* 2020**).

Los sistemas de producción extensivos generalmente utilizan monocultivo de gramíneas caracterizadas por ser de bajo valor nutricional (escaso aporte de proteína y elevada concentración de fibra) (**Barros-Rodríguez *et al.* 2017**) y la capacidad de producir mayor cantidad de GEI que promueven pérdidas energéticas en el animal y merman la producción (**Johnson y Johnson 1995**).

Con la finalidad de subsanar estos problemas se plantea la utilización de sistemas de producción no tradicionales que permitan intensificar la producción de bovinos al utilizar un área limitada de superficie y facilitar la manipulación de la dieta con el propósito de disminuir la generación de GEI. El sistema de engorde a corral [feedlot (Figura 1)] se plantea como estrategia en la producción cárnica de bovinos el cual consiste en criar y engordar animales hasta que estos alcancen el peso al sacrificio propicio en un área reducida. No obstante, una de las mayores limitantes para su empleo es el alza en los costos de producción debido al elevado uso de granos, cereales y bajo aporte de forraje (**Endres y Schwartzkopf-Genswein 2018**).



Figura 1. Engorde a corral (feedlot)

Fuente: Tomado de Endres y Schwartzkopf-Genswein (2018).

La gran importancia que tiene la producción de rumiantes y sus derivados (carne y leche) como fuente de proteína para la alimentación del ser humano es elevada, debido en mayor parte al: a) constante incremento poblacional a nivel mundial b) alta demanda de estos productos y c) su asequibilidad limitada (**Corrales-Arévalo *et al.* 2021**). Esto se ve reflejado con aproximadamente 2000 millones de personas que padecen deficiencia nutricional a nivel mundial, de los cuales los niños son los más afectados con retraso en el crecimiento y déficit en el desarrollo cognitivo como consecuencia del consumo reducido de alimentos de origen animal y el déficit de micronutrientes (**Adesogan *et al.* 2020**).

Con el propósito de abastecer las necesidades de proteína de origen animal, principalmente aquellos obtenidos a partir de la ganadería bovina, ha llevado al deterioro y utilización de extensas áreas de tierra con la consecuente destrucción de ecosistemas (**De Oliveira *et al.* 2016**) y elevación de GEI, exacerbado por el incremento de la población de rumiantes (bovinos, ovinos, caprinos) (**Núñez-Torres y Rodríguez-Barros, 2019**).

2.1.3. Fermentación ruminal

La degradación del material vegetal es tiempo dependiente y se ve influenciado por la naturaleza del sustrato y la capacidad de la microbiota ruminal para generar complejos con el material a degradar (**Elliott *et al.* 2018**) y obteniendo como productos finales ácidos grasos volátiles [AGV's (acético, 7roteína7o y butírico)], CO₂ y CH₄ (**Newbold y Ramos-Morales 2020**).

2.1.4. Gases de efecto invernadero (GEI)

El impacto medioambiental de la industria ganadera bovina destinada a la producción de leche y carne en la última década ha evidenciado un preocupante efecto sobre el cambio climático. Alrededor del 23% de la generación antropogénica de GEI se da por la actividad agrícola, forestal y diversos usos del suelo, estimándose el 44% del CH₄ total producido a nivel mundial, del cual los rumiantes se responsabilizan de emanar el 46% del cumulo de CH₄ (**Thompson y Rowntree 2020**).

2.1.5. Metanogénesis ruminal: producción de CH₄

Un bovino tiene la capacidad de producir altas cantidades de CH₄ diariamente [150-450 litros (L)] y liberarlo a la atmósfera por eructos (**Janssen 2010**). Posterior a la ingesta de alimentos, los nutrientes (carbohidratos principalmente) se degradan por los microorganismos del rumen y originan AGV's, CO₂ e hidrógeno metabólico (H₂) (**Li et al. 2021**).

Inmediatamente, las arqueas metanógenas presentes en el rumen aprovechan el H₂ y CO₂ como sustrato para la formación de CH₄ por vía hidrogenotrófica. La utilización del H₂ impide su acumulo en la luz ruminal y mediante ello precautela su homeostasis. Contrario a lo descrito, el almacenamiento de H₂ en el rumen representaría una limitante importante sobre la microbiota ruminal, puesto que afectaría la capacidad de crecimiento microbiano, degradación de nutrientes y síntesis de proteína microbiana (**Beauchemin et al. 2020**).

El CH₄ es el segundo GEI más producido a nivel mundial posterior al CO₂. No obstante, debido a su elevada capacidad de calentamiento con respecto al CO₂ (28 veces más perjudicial) hace que su reducción sea crucial (**Sun et al. 2021**).

2.1.6. El dióxido de carbono (CO₂) y su impacto medioambiental

La **FAO (2013)** informa que la producción ganadera genera aproximadamente 7,1 Giga toneladas (GT) de CO₂ anualmente. La producción de CO₂ en el rumiante se da principalmente por la actividad fermentativa de la microbiota ruminal y el intercambio gaseoso del animal (**Lee et al. 2017**). La producción ganadera, elaboración de alimentos y la utilización de la energía produce 8,1% de emisión de CO₂. Por otra parte, los bovinos y pequeños rumiantes (ovinos y caprinos) son responsables de generar el 33,4% y 10,6% de CO₂ respectivamente con una producción individual de 3,7; 0,28 y 0,25 Toneladas (t) para bovinos, ovinos y caprinos (**Habib 2018**).

2.1.7. ¿Cómo solucionar las emisiones de GEI en los rumiantes?

La mayor problemática evidenciada en la producción de rumiantes ha sido la generación antropogénica y liberación de CH₄ y CO₂ a la atmósfera. El CH₄ y su eliminación representan pérdidas elevadas de la energía consumida por el animal (2-12%) que podría ser utilizada para la producción y mejorar su rendimiento (**Johnson y Johnson 1995**).

Durante muchos años se han investigado diversas alternativas que permitan la solución de estos inconvenientes. Por lo que la manipulación de la dieta y su empleo en la alimentación de rumiantes ha despertado gran interés en los investigadores. Esto ha permitido incorporar fuentes forrajeras no convencionales (árboles y arbustos) y subproductos agro-industriales en la alimentación de los animales (**Núñez-Torres y Rodríguez-Barros, 2019**). El efecto reductor de la metanogénesis ruminal se atribuye a la presencia de metabolitos secundarios (taninos, saponinas, aceites esenciales, etc.) (**Bodas *et al.* 2012; Seidavi *et al.* 2018**).

2.1.8. Metabolitos secundarios

Los taninos, aceites esenciales, etc. Son fitoquímicos naturales capaces de manipular la fermentación ruminal sin generar resistencia microbiana o efectos perjudiciales a los subproductos derivados de los animales (carne y leche). Efectos que se atribuyen principalmente a la acción antimicrobiana y antioxidante de sus principios activos y su mecanismo de acción, mismos que inhiben la posibilidad de mermar su actividad a lo largo de los años (**Soltan y Patra 2021**).

2.1.8.1. Taninos

Los taninos son compuestos polifenólicos de alto peso molecular y solubles en agua. Los taninos se subdividen en dos grupos: 1) Taninos hidrolizados (TH), y 2) Taninos condensados (TC). Los TH son moléculas altamente complejas conformados por un poliol como eje central (glucosa generalmente o glucitol, quercitol, ácido quínico y ácido shikímico) (**Patra y Saxena 2011**).

Los TC o también denominados proantocianidinas se conforman primordialmente por subunidades de Flavan 3-ol fusionadas por enlaces inter-flavonoides (**Patra y Saxena 2011**). Los TC se diferencian de otros polifenoles por la capacidad de unirse a las proteínas y crear complejos (complejo tanino-proteína) y precipitarlas (**Ku-Vera *et al.* 2020**). La capacidad de formar complejos tanino-proteína se atribuye a la presencia de diversos grupos hidroxilo en su estructura (**Vélez-Terranova *et al.* 2014**). Bajo estas condiciones, los TC son los compuestos secundarios más investigados con aras a la modulación de la fermentación ruminal (**Soltan y Patra 2021**).

2.1.8.1.1. Mecanismo de acción

El efecto directo o indirecto de los taninos sobre la síntesis de CH₄ en el rumen se observa debido a la disminución de la comunidad de arqueas metanógenas para la primera (directo) o por la merma de la población de protozoos ruminales para la segunda (indirecto) (**Ku-Vera et al. 2020**). Se postulan diferentes hipótesis que explicarían la acción de los taninos y la producción de CH₄ entérico (**Naumann et al. 2017**).

- 1) Interrupción de la unión inter-especies (metanógeno-protozoo) por el efecto del TC sobre la adhesina proteica o parte de la envoltura celular e inhibir el traspaso de hidrogeno y consecuente crecimiento de metanógenos (**Tavendale et al. 2005**).
- 2) Baja disponibilidad de nutrientes para los microorganismos ruminales como efecto indirecto de la formación de complejos tanino-proteína en el rumen que se liberaran en las partes bajas del tracto gastrointestinal (abomaso y duodeno) (**Mueller-Harvey 2006**).
- 3) La acción de los TC sobre la disponibilidad de hidrogeno para la reducción de CO₂ a CH₄ (**Naumann et al. 2017**).

2.1.8.2. Aceites esenciales (AE)

Los AE son compuestos aromáticos altamente volátiles obtenidos a partir de frutos, hojas, raíces, semillas, tallos, etc. (**Ugbogu et al. 2019**). Los AE se subdividen en dos grandes grupos: 1) Terpenoides y 2) Fenilpropanoides (**Calsamiglia et al. 2007**). Se han descrito una gran variedad de efectos benéficos de los AE sobre la salud del animal atribuible a la actividad antimicrobiana de los AE sobre diversos microorganismos (bacterias Gram + y Gram -, virus, protozoos y hongos). Por la naturaleza lipofílica de algunos aceites esenciales se han obtenido mayor actividad contra bacterias Gram +. Por otra parte, las bacterias Gram – se ven afectados por los hidrocarburos aromáticos (**Ugbogu et al. 2019**).

2.1.8.2.1. Mecanismo de acción

Los AE por su característica hidrofóbica y su atracción por los lípidos de membrana celular promueven su destrucción directa o indirectamente al generar daños sobre la membrana citoplasmática y promover un aumento en la permeabilidad de la misma, cambios

estructurales, inhibición en el crecimiento, desarrollo y actividad bacteriana que posteriormente promoverá cambios en la microbiota ruminal y función fermentativa (**Jouany y Morgavi 2007**).

2.1.9. Cacao (*Theobroma cacao*)

El cacao (*Theobroma cacao*) pertenece a la familia Malvaceae. Se halla altamente distribuida en América del Sur y América Central. El árbol de cacao alcanza alturas entre 4-10 metros. El ciclo productivo de *Theobroma cacao* inicia a los 3 años de edad. El fruto de *Theobroma cacao* crece en el tronco y ramas, su forma característica aparenta una baya y puede llegar a medir 15-25 cm de longitud con un diámetro de 8-13 cm. Durante la cosecha se evidencia un gran número de almendras en su interior (20-40) recubiertas por una pulpa denominada mucilago. La pulpa y la almendra posterior a su procesamiento es utilizada para la fabricación de chocolate (**Vásquez et al. 2019**).

En el Ecuador se hallan cultivadas 1'504.694 hectáreas (ha) de cultivo permanente (banano, palma africana, caña de azúcar, cacao). El 39,25% (590.592,395 ha) está representada por cultivo de cacao, con una producción total de 327.903 Toneladas métricas (t) para el año 2020. Observándose un crecimiento del 13,48% con respecto al año 2019 (**INEC 2021^a**).

2.1.9.1. Cascarilla de cacao

La cascarilla de cacao, es un subproducto que se obtiene mediante el proceso de aventado realizado al finalizar el tostado de la almendra para la consecuente elaboración de chocolate el cual generalmente es desechado. Este subproducto es muy rico en nutrientes (Cuadro 3) y particularmente en fibra dietética (12-18%) y representa cerca del 12% de la almendra (**Azevêdo et al. 2011; Baena y García 2012; Vásquez et al. 2019**).

Cuadro 3. Composición química de la cascarilla de cacao (% MS), salvo donde se indique lo contrario

Compuestos	Autores	
	Azevêdo <i>et al.</i> (2011)	Vásquez <i>et al.</i> (2019).
MS	89,34	-
MO	92,58	-
PB	14,33	-
EE	5,07	-
FDNlbrcp	36,97	-
FDA	40,09	-
Lignina	18,54	32,41
Carbohidratos	-	17,8-23,17
Celulosa	-	15,1
PT	-	15,79-18,1
Lípidos	-	2,02-6,87
Pectina	-	4,7-6,0
Cenizas	-	5,96-11,42
Fibra dietética total	-	18,6-60,6
Teobromina	-	1,3
Cafeína	-	0,1
Fenoles totales	-	1,32-5,78
Antocianinas	-	0,4
Taninos	-	3,3-4,46
Flavonoides	-	1,5

MS: Materia Seca; MO: Materia Orgánica; PB: Proteína Bruta; EE: Extracto Etéreo; FDNlbrcp: Fibra Detergente Neutra libre de ceniza y proteína; FDA: Fibra Detergente Ácida; PT: Proteína Total.

2.1.10. Maracuyá (*Passiflora edulis*)

El maracuyá es originario de las regiones tropicales de América, pertenece a la familia Passifloraceae y la especie más cultivada en el mundo es el maracuyá amarillo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*). La industrialización del maracuyá para la obtención de bebidas a partir del jugo deja como subproductos toneladas de biomasa (cascara y semillas) (**Ramaiya et al. 2018**).

La cascara y semilla representan 700 g/kg y 260 g/kg del fruto industrializado respectivamente (**Ferreira et al. 2021**). Las semillas se caracterizan por su elevado contenido de ácidos grasos y fibra (Cuadro 4) que se eliminan posterior al proceso de triturado para la extracción del jugo. Este residuo agroindustrial demanda altos costos operacionales para su eliminación ya que pueden representar un problema para el medio ambiente (**Malacrida y Jorge 2012**). En consecuencia, la utilización de este subproducto en la alimentación de rumiantes como fuente de ácidos grasos representa una alternativa para su eliminación y agrega un incentivo económico para la agroindustria.

Bajo estos antecedentes, la torta de la semilla de maracuyá (*Passiflora edulis*) obtenida durante su industrialización previo a la extracción del aceite se caracteriza por su elevado contenido ácidos grasos insaturados (**Ferreira et al. 2021**) que, además tienen la capacidad de reducir la metanogénesis ruminal como respuesta al efecto tóxico sobre las arqueas metanógenas en el rumen (**Kliem et al. 2019**). No obstante, se hace importante crear estrategias nutricionales enfocadas a mejorar la transferencia de los ácidos grasos insaturados consumidos por el animal a sus productos derivados (carne y leche), ya que, en el rumen los lípidos atraviesan un proceso de lipólisis microbiana obteniéndose ácidos grasos libres mediante un proceso de biohidrogenación para finalmente formar como productos finales ácidos grasos saturados (**Jenkins et al. 2008**). Por lo que, el consumo de ácidos grasos insaturados combinados con compuestos bioactivos (taninos) podrían tener la capacidad de modular la fermentación ruminal e inhibir la biohidrogenación de los ácidos grasos libres y, estimular la producción de intermediarios benéficos para la salud humana (**Vasta et al. 2008; Manso et al. 2016**).

Cuadro 4. Composición química (g/kg) y concentración de ácidos grasos (% MS) en semillas de maracuyá (*Passiflora edulis*), salvo donde se indique lo contrario

Compuestos	Autores			
	Ferreira <i>et al.</i> (2021)	Lopes <i>et al.</i> (2010)	Malacrida <i>et al.</i> (2012)	Zanetti (2018)
Composición química				
EB (MJ/kg)	22,4	-	-	-
MS	921,6	-	-	-
PC	119,3	-	-	-
EE	218,2	-	-	-
FDN	656,6	-	-	-
FDA	625,5	-	-	-
Ceniza	17,0	-	-	-
Ácidos grasos				
C12:0	-	0,00	-	-
C14:0	-	0,10	-	0,09
C16:0	-	11,30-12,40	9,73	10,99
C16:1	-	0,20	0,11	0,17
C18:0	-	2,90-3,60	2,58	2,89
C18:1n9	-	15,50-15,70	13,83	14,89
C18:1n11	-	0,40-0,50	-	-
C18:2	-	67,00-68,40	73,14	69,14
C18:3	-	0,40	0,41	0,39
C20:0	-	0,10-0,20	0,10	0,12
C20:1	-	0,10	0,10	0,11
C22:0	-	0,00-0,10	-	0,06

EB: Energía Bruta; MS: Materia Seca; PC: Proteína Cruda; EE: Extracto Etéreo; FDN: Fibra Detergente Neutra; FDA: Fibra Detergente Ácida;

2.2. Hipótesis y objetivos

2.2.1. Hipótesis

La utilización de dietas a base de cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*) y aceite vegetal puede mejorar el comportamiento productivo, función ruminal y características de la canal en toros bajo un sistema feedlot

2.2.2. Objetivos

2.2.2.1. Objetivo general

Evaluar el comportamiento productivo, características de la canal y función ruminal en toros de engorde alimentados con dietas a base de cascarilla de cacao y aceite vegetal

2.2.2.2. Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de dietas a base de cascarilla de cacao y aceite vegetal en la alimentación de bovinos
2. Determinar el consumo de alimento, conversión alimenticia, eficiencia alimenticia, ganancia de peso y características de la canal en toros alimentados en un sistema de engorde intensivo con dietas a base de cascarilla de cacao y aceite vegetal
3. Caracterizar la cinética de degradación ruminal, digestibilidad y producción de gas *in vitro* en toros alimentados con dietas a base de cascarilla de cacao y aceite vegetal

CAPITULO III

3. METODOLOGÍA

3.1. Materiales

- 30 novillitos provenientes de 3 grupos (n=10) alimentados con los tratamientos a evaluar de la empresa Ruminant Feedlot para la recopilación de datos para las características de la canal
- Incubador Daisy^{II} Ankom (Ankom, Macedon, NY, USA)
- Cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*)
- Aceite vegetal de torta de semilla de maracuyá (*Passiflora edulis*)
- Saliva artificial (mezcla química artificial)
- Agua destilada
- Estufa
- Baño maría
- Frascos de digestión ámbar de 100 ml de capacidad
- Desinfectantes
- Materiales de limpieza
- Dietas balanceadas
- Registros del comportamiento productivo de 30 novillitos provenientes de 3 grupos (n=10) alimentados con los tratamientos a evaluar durante la fase final de engorde (120 días) proporcionados por la empresa Ruminant Feedlot
- Balanza analítica
- Balanza digital
- Digestor de fibra (ANKOM Technology)
- Transductor de gas o de presión
- Medidor proteico (LECO corporation)
- Computadora portátil

3.2.Métodos

3.2.1. Ubicación del experimento

La presente investigación se realizó en la hda. “Kelly María” corrales de engorde RUMINANT FEEDLOT, ubicada en el recinto la LIBERTAD del Cantón LA MANÁ – COTOPAXI y los análisis *in vitro* en el laboratorio de Ruminología y metabolismo nutricional (RUMEN) de la finca experimental “La María” Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), Quevedo - Los Ríos - Ecuador.

3.2.2. Características del lugar

La finca experimental “La María” posee una temperatura promedio de 25,80°C, con una precipitación de 2223,78 mm/año, humedad relativa de 85,84 % y Heliofanía de 898,77 horas/luz/año (**Cagua 2021**).

3.2.3. Animales

Se utilizaron 30 novillitos que fueron alimentados con dietas a base de cascarilla de cacao y aceite vegetal por 120 días provenientes de la empresa Ruminant Feedlot perteneciente al Dr. Marcos Barros ubicada en el cantón La Maná

3.2.4. Alimentación

Los animales se alimentaron con los tratamientos designados por 120 días previo a un periodo de adaptación de 15 días

3.2.5. Factores de estudio

Subproductos de la agro-industria:

- Cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*)
- Aceite vegetal de torta de semilla de maracuyá (*Passiflora edulis*)

3.2.5.1.Tratamientos

Los tratamientos se encuentran detallados en el Cuadro 5 y Cuadro 6

Cuadro 5. Formulación de dietas (tratamientos)

Tratamientos	Repeticiones	Porcentaje de inclusión
T1 (Testigo)	10	Dieta basal (cubriendo los requerimientos nutricionales para novillitos se terminación tardía según el AFRC (1996) + 15% cascarilla de cacao (<i>Teobromina cacao</i>) + 6% aceite vegetal de torta de semilla de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>) (Testigo)
T2	10	Dieta basal + 6% aceite vegetal de torta de semilla de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)
T3	10	Dieta basal + 15% cascarilla de cacao (<i>Teobromina cacao</i>)

Cuadro 6. Tratamientos elaborados con base a los requerimientos nutritivos expuestos en la AFRC (1996) para novillitos de terminación tardía y composición química (% MS), salvo donde se indique lo contrario

	Tratamientos		
	T1	T2	T3
Dieta basal acorde al AFRC (1996) *	59	74	65
Maralfalfa	20	20	20
Cascarilla de cacao (<i>Teobromina cacao</i>)	15	0	15
Aceite vegetal de torta de semilla de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	6	6	0
Total	100	100	100
Composición química			
MS	52,00	48,63	50,93
PB	13,72	13,44	13,52
EM (kcal)	2555,62	2242,01	2327,54
FDN	47,90	50,23	47,83
FDA	30,74	28,96	30,97
Taninos Condensados	0,585	-	0,585
Ácidos grasos			
C14:0	0,006	0,006	-
C16:0	0,744	0,744	-
C16:1	0,012	0,012	-
C18:0	1,192	1,192	-
C18:1	0,942	0,942	-
C18:2	4,020	4,020	-
C18:3	0,024	0,024	-

PB: Proteína Bruta; Energía Metabolizable; FDN: Fibra Detergente Neutra; FDA: Fibra Detergente Ácida. C14:0 = ácido mirístico; C16:0 = ácido palmítico; C16:1 = ácido palmitoleico; C18:0 = ácido esteárico; C18:1 = ácido oleico; C18:2 = ácido linoleico; C18:3 = ácido linolénico. * se obvia los ingredientes y sus porcentajes de la dieta, debido a secreto agroindustrial

3.2.6. Diseño experimental

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con, 3 tratamientos y 10 repeticiones para el rendimiento productivo de los animales, características de la canal y el volumen de producción de gas *in vitro*, por otra parte se utilizaron 3 tratamientos y 5 repeticiones para la degradación ruminal y digestibilidad *in vitro* de la MS. Todas las variables se analizaron según el diseño planteado mediante una ANOVA utilizando el PRO GLM del SAS (versión 9.2, SAS Institute, Cary, NC, USA). La comparación de medias se realizó mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey.

3.2.7. Variables respuesta

3.2.7.1. Consumo voluntario de nutrientes

Se estimó mediante método directo [alimento ofrecido (kg) – alimento rechazado (kg)] acorde a los registros proporcionados por la empresa de la que provienen los animales, el cual consistió en pesar el alimento ofrecido y el rechazado cada de 24 horas (**Núñez Torres et al. 2018**), con una balanza digital de 100 kg de capacidad, por 3 días consecutivos. Este procedimiento se realizó cada 30 días, durante 120 días.

3.2.7.2. Ganancia de peso

Se estimó mediante método directo [peso inicial (kg) – peso final (kg)] (**Núñez Torres et al. 2018**) acorde a los registros proporcionados por la empresa de la que provienen los animales, el cual consistió en pesar a los animales cada 30 días, con 14 horas de ayuno previo durante 120 días con una balanza digital de 1000 kg de capacidad.

3.2.7.3. Conversión alimenticia

La conversión alimenticia se obtuvo mediante estimación matemática entre la relación de alimento consumido por día en kg y la ganancia diaria de peso expresada en kg acorde a los registros proporcionados por la empresa de la que provienen los registros, aplicando la siguiente fórmula: Conversión Alimenticia = Consumo de Alimento Individual (kg)/Ganancia Diaria de Peso (kg) (**Núñez Torres et al. 2018**).

3.2.7.4.Eficiencia alimenticia

La eficiencia alimenticia se obtuvo mediante estimación matemática entre la relación de la ganancia diaria de peso en kg y alimento consumido por día en kg acorde a los registros proporcionados por la empresa de la que provienen animales, aplicando la siguiente fórmula: Eficiencia Alimenticia = Ganancia Diaria de Peso(kg)/ Consumo de Alimento Individual (kg) (Volpi-Lagrecia *et al.* 2021).

3.2.7.5.Rendimiento de la canal

Se estimó por cálculo matemático mediante la siguiente formula (Carrillo-Herrera *et al.* 2016):

Rendimiento a la canal caliente (%)=[Peso de la canal caliente (kg) / Peso vivo del animal (kg)] * 100.

3.2.7.6.Área del musculo *Longissimus dorsi* [(AMLd cm²) Ribeye] y Espesor de Grasa del Ribeye (EGRi mm).

La medición del AMLd (cm²) y el EGRi (mm) se realizó acorde lo describe la USDA (2021a) y USDA (2021b) respectivamente.

3.2.7.7.Degradación ruminal

Se realizó *in vitro* acorde a lo descrito por Tassone *et al.* (2020). Para lo cual se empleó una incubadora Daisy^{II} Ankom (Ankom, Macedon, NY, USA). Se utilizaron bolsas F57, tamaño de poro 25 µm (Ankom Technology Coerporation Fairport, NY, USA). El líquido ruminal se obtuvo acorde lo descrito por Alba *et al.* (2018) el cual consistió en recolectar el líquido ruminal de 9 animales posterior al sacrificio (n=3) alimentados con los tratamientos evaluados en un tiempo estimado máximo de 15 min en recipientes con agua precalentada a 39 °C. Se preparó el medio rico en nitrógeno acorde a lo descrito por Menke y Steingass (1988). Enseguida 0,500 g de muestra se colocó en cada bolsa y se introdujo en el equipo Daisy^{II} Ankom (Ankom, Macedon, NY, USA) a diferentes tiempos acorde lo descrito por Ørskov *et al.* (1980), el cual consiste en introducir las bolsas por 0, 4, 12, 24, 36, 48, 72 y 96 horas. Posteriormente, las bolsas se retiraron del equipo Daisy II Ankom, se lavaron y

luego fueron secadas a 60°C. Las bolsas se preservaron a -4°C hasta realizar los análisis correspondientes.

Para el cálculo de la cinética de degradación ruminal de los nutrientes se empleó el programa (GraphPad Prism versión 7.2016) que modela los datos con base en la ecuación exponencial [ecuación (1)] y la degradación efectiva [ecuación (2)] descritas por **Ørskov y McDonald (1979)**.

$$Y = a + b*(1 - e^{-c*t}) \quad (1)$$

$$\text{Degradación efectiva} = a + ((b*c)/(c+k)) \quad (2)$$

Donde:

Y = Porcentaje de degradación acumulada en un tiempo t %.

a = Intercepto de la curva de degradación con $t=0$ (degradación inicial %)

b = Fracción potencialmente degradada en el rumen

c = Tasa de degradación, (% horas).

t = Tiempo de incubación en el rumen, (horas).

e = Base de los logaritmos naturales

k = Tasa de flujo de las partículas del rumen

3.2.7.8. Digestibilidad aparente de los nutrientes

La digestibilidad se realizó *in vitro*. Se empleó la metodología descrita para la degradación ruminal *in vitro* (arriba mencionada). Para lo cual se utilizó una incubadora Daisy^{II} Ankom (Ankom, Macedon, NY, USA) (**Tassone et al. 2020**), y se incubaron las muestras por 24 y 48 h (**Ørskov et al. 1980**).

3.2.7.9. Producción de gas *in vitro*

Se estimó de acuerdo con la metodología descrita por **Theodorou et al. (1994)** en la que se utilizó 0,500 g de MS de cada tratamiento en frascos de vidrio con 100 ml de capacidad, en breve se colocó 60 ml de inóculo ruminal bajo un constante flujo de CO₂. Los frascos se

taparon en su totalidad e incubaron a una temperatura comprendida entre 39-40°C. Con ayuda de un transductor de presión (DO 9704, Delta OHM, Italia) y jeringas plásticas se midió la presión y el volumen de gas a las 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 y 96 horas. La producción total de gas se calculó por 0,500 g de MS degradada. El medio rico en nitrógeno se preparó acorde a lo descrito por **Menke y Steingass (1988)**. El líquido ruminal se obtuvo acorde lo descrito por **Alba et al. (2018)**.

La producción de gas se ajustó a la ecuación (3) descrita por **Krishnamoorthy et al. (1991)**.

$$y = B \{1 - \exp^{-k * t}\} \quad (3)$$

Donde:

y= Producción acumulada de gas en el tiempo

B= Potencial de producción de gas (volumen total de gas mL)

k= Tasa fraccionaria de producción de gas

t= Tiempo de fermentación

3.2.7.10. Análisis químico

La materia seca (MS) (# 7.007) se determinó según la **AOAC (1990)**. La fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácida (FDA) se determinaron mediante el método 12 y 13 respectivamente, ANKOM2000 analizador de fibra (ANKOM Technology, Macedon, NY, EEUU). La PC se determinó por análisis elemental (N) utilizando un LECO CHN 628 (LECO Corporation). Los taninos condensados fueron determinados por el método de vainillina (**Price et al. 1978**). La composición de ácidos grasos se estimó según lo descrito por **Hartman y Lago (1973)**.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS, DISCUSIÓN Y VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS

4.1.Resultados

4.1.1. Cinética de degradación ruminal *in vitro* y Digestibilidad *in vitro* de la MS

La cinética de degradación ruminal *in vitro* de la MS presentó diferencias significativas entre tratamientos, siendo mayor ($p < 0,0001$) para la fracción soluble (A) en T1 y menor en T3. La fracción insoluble pero potencialmente degradable (B) fue mayor ($p = 0,0003$) en T3 con respecto a los demás tratamientos. La tasa de pasaje en % hora (c) fue superior en T2 y T3 ($p = 0,0025$). La tasa de degradación potencial (A+B) y degradación efectiva [(c: 0,02; 0,05 y 0,08)] mostraron diferencias significativas entre tratamientos, hallándose en T1 el valor más alto ($p < 0,05$). Por otra parte, la DIVMS a las 24h no mostraron diferencias estadísticas. No obstante, a la hora 48 la DIVMS fue superior ($p = 0,0004$) en T1, T3 y menor en T2. (Cuadro 7).

Cuadro 7. Cinética de degradación ruminal y digestibilidad *in vitro* de novillitos alimentados por 120 días con dietas a base de cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*) y aceite vegetal de torta de semillas de maracuyá (*Passiflora edulis*)

	Tratamientos			EEM	P-Valor
	T1	T2	T3		
Degradación <i>in vitro</i> de la MS					
A	32,7a	27,0b	23,8c	0,73	<0,0001
B	39,7b	35,4c	44,2a	0,93	0,0003
c	0,025b	0,049a	0,041a	0,003	0,0025
A+B	72,4a	62,3c	68,1b	0,92	0,0001
Degradación efectiva de la MS					
0,02	54,8a	51,9b	53,5a	0,38	0,0019
0,05	45,9a	44,3b	43,7b	0,35	0,0043
0,08	42,2a	40,3b	38,7c	0,35	0,0003
Digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS					
DIVMS 24h	53,7a	52,7a	52,8a	2,44	0,9486
DIVMS 48h	64,6a	60,2b	64,3a	0,61	0,0004

^{a, b, c}: Medias con letras distintas difieren significativamente (P<0,05). T1: Testigo [Dieta basal +15% cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*) + 6% aceite vegetal de torta de semillas de maracuyá (*Passiflora edulis*)]. T2: Dieta basal + 6% aceite vegetal de torta de semillas de maracuyá (*Passiflora edulis*). T3: Dieta basal + 15% cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*). A: Fracción soluble; B: Fracción insoluble pero potencialmente degradable; c: Tasa de pasaje en % hora; A+B: Degradación potencial; DIVMS: Digestibilidad *in vitro* de la MS; EEM: Error Estándar de la Media

4.1.2. Producción de gas *in vitro* de la MS

La producción de gas *in vitro* mostro diferencias estadísticas entre tratamientos. La producción total de gas (B) fue mayor en T2 y menor en T1 y T3 (p=<0,0001). Contrario a ello, la producción de gas en % hora (c) fue superior en T1 e inferior en T2 y T3 (p=<0,0001) (Cuadro 8).

Cuadro 8. Producción de gas *in vitro* de novillitos alimentados por 120 días con dietas a base de cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*) y aceite vegetal de torta de semilla de maracuyá (*Passiflora edulis*)

	Tratamientos			EEM	P-Valor
	T1	T2	T3		
Producción de gas <i>in vitro</i> (mL/500 mg MS Degradada)					
B	127,0c	194,2a	164,2b	8,46	<0,0001
c	0,018a	0,010b	0,009b	0,001	<0,0001

^{a, b, c}: Medias con letras distintas difieren significativamente ($P < 0,05$). T1: Testigo [Dieta basal +15% cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*) + 6% aceite vegetal de torta de semillas de maracuyá (*Passiflora edulis*)]. T2: Dieta basal + 6% aceite vegetal de torta de semillas de maracuyá (*Passiflora edulis*). T3: Dieta basal + 15% cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*). B: Producción total de gas; c: Tasa de producción de gas por % hora; MSF: Materia Seca Degradada; EEM: Error Estándar de la Media

4.1.3. Comportamiento productivo

El comportamiento productivo de los animales presento diferencias significativas entre tratamientos. La ganancia diaria de peso (GDP) mostro en T1 y T3 el valor más alto con respecto a T2 ($p=0,0019$). El Consumo de Materia Seca Total (CMST) y Consumo de Materia Seca Individual (CMSI) fue mayor en T1, T3 y menor en T2 ($p=0,0142$). Por otra parte, la conversión alimenticia [CA (kg/kg)] fue menor en T2 comparado con los demás tratamientos ($p=0,0006$). Así también, la eficiencia alimenticia [EA (kg/kg)] mostro diferencias estadísticas entre los tratamientos con el resultado mayor en T2 ($p=0,0008$) (Cuadro 9).

Cuadro 9. Comportamiento productivo de novillitos alimentados por 120 días con dietas a base de cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*) y aceite vegetal de torta de semilla de maracuyá (*Passiflora edulis*)

	Tratamientos			EEM	P-Valor
	T1	T2	T3		
PVI (kg)	209,7a	205,1a	203,8a	7,60	0,8443
PVF (kg)	317,9a	304,3a	319,8a	7,11	0,2608
GDP (kg/d)	0,916a	0,827b	0,967a	0,025	0,0019
CMST(kg/d)	91,3a	69,1b	90,1a	5,51	0,0142
CMSI (kg/d)	9,1a	6,9b	9,0a	0,55	0,0142
CA (kg/kg)	10,0a	8,4b	9,5a	0,25	0,0006
EA (kg/kg)	0,100b	0,119a	0,107b	0,003	0,0008

^{a, b, c}: Medias con letras distintas difieren significativamente ($P < 0,05$). T1: Testigo [Dieta basal +15% cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*) + 6% aceite vegetal de torta de semillas de maracuyá (*Passiflora edulis*)]. T2: Dieta basal + 6% aceite vegetal de torta de semillas de maracuyá (*Passiflora edulis*). T3: Dieta basal + 15% cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*). PVI: Peso Vivo Inicial; PVF: Peso Vivo Final; GDP: Ganancia Diaria de Peso; CMST: Consumo de Materia Seca Total; CMSI: Consumo de Materia Seca Individual; CA: Conversión Alimenticia, CMS/GDP. EA: Eficiencia Alimenticia, GDP/CMS; EEM: Error Estándar de la Media

4.1.4. Características de la canal

El Rendimiento a la Canal Caliente (RC %) mostro diferencias estadísticas entre tratamientos, hallándose en T3 el mayor valor con respecto a los demás tratamientos ($p=0,0032$). El Área del Musculo *Longissimus dorsi* (AMLd cm^2) presento menor valor en T2 comparado con los otros tratamientos ($p < 0,0001$). El Espesor de Grasa del Ribeye (EGRi mm) manifestó mayor valor en T2 respecto a los tratamientos restantes ($p=0,0096$). Por otra parte, el Peso a la Canal Caliente (PCC kg) no mostro diferencias significativas entre tratamientos ($p=0,0797$) (Cuadro 10).

Cuadro 10. Características de la canal de novillos alimentados por 120 días con dietas a base de cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*) y aceite vegetal de torta de semilla de maracuyá (*Passiflora edulis*)

	Tratamientos			EEM	P-Valor
	T1	T2	T3		
PVF (kg)	317,9a	304,3a	319,8a	7,111	0,2608
PCC (kg)	168,7a	161,0a	174,9a	4,174	0,0797
RCC (%)	53,0b	52,8b	54,6a	0,363	0,0032
AMLd*(cm ²)	61,8a	55,1b	62,4a	0,990	<0,0001
EGRi ⁺ (mm)	0,330ab	0,410a	0,300b	0,020	0,0096

^{a, b, c}: Medias con letras distintas difieren significativamente (P<0,05). T1: Testigo [Dieta basal +15% cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*) + 6% aceite vegetal de torta de semillas de maracuyá (*Passiflora edulis*)]. T2: Dieta basal + 6% aceite vegetal de torta de semillas de maracuyá (*Passiflora edulis*). T3: Dieta basal + 15% cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*). PVF: Peso Vivo Final; PCC: Peso de la Canal Caliente; RC: Rendimiento de la Canal (%); AMLd: Área del Músculo *Longissimus dorsi* (Ribeye), *Incisión realizada entre las costillas 12 y 13; EGRi: Espesor de la Grasa del Ribeye, ⁺ Área ubicada en las $\frac{3}{4}$ partes del Rybeye (AMLd) obtenido de la incisión realizada entre las costillas 12 y 13; EEM: Error Estándar de la Media.

4.2. Discusión

4.2.1. Cinética de degradación ruminal *in vitro* y DIVMS

La mayor degradación de la fracción soluble (A), degradación potencial (A+B), degradación efectiva para las diferentes tasas de pasaje en % h (0,02; 0,05 y 0,08) y DIVMS (48h) observadas en T1 se debe probablemente a: 1) la menor proporción de carbohidratos estructurales en la dieta que, facilita la actividad de los microorganismos sobre el sustrato (Salem *et al.* 2011) y 2) por la presencia de compuestos secundarios (taninos) (Vasta *et al.* 2019). Contrario a ello, la menor cinética de degradación ruminal observada en T2 se debe probablemente al mayor aporte de carbohidratos estructurales (celulosa y hemicelulosa) de la torta de la semilla de maracuyá (Guerra *et al.* 2017) o, al efecto tóxico de los lípidos insaturados de la semilla sobre las bacterias que degradan la celulosa (Chalupa *et al.* 1986). Sin embargo, la falta de efectos negativos en T1 por la incorporación de lípidos insaturados en forma de torta de semilla de maracuyá se debe probablemente a la capacidad defaunante del tanino sobre los microorganismos ruminales y consecuente disminución de la actividad

lipolítica de las enzimas bacterianas (**Lee et al. 2010**). Bajo este contexto **Cabiddu et al. (2010)** reportan una disminución de lipólisis y biohidrogenación en el rumen atribuidas a la presencia de compuestos fenólicos. Así mismo **Pinto et al. (2020)** atribuyen la baja degradación y digestibilidad al escaso aporte de carbohidratos no estructurales de la torta de semillas de maracuyá (<20%) y su elevado contenido de fibra. **Litherland et al. (2022)** evidenciaron una menor digestibilidad de nutrientes al proporcionarles fuentes de ácidos grasos insaturados en la dieta de vacas lecheras lactantes.

4.2.2. Producción de gas *in vitro* de la MS

La menor producción de gas *in vitro* encontrada en T1 y T3 se debe probablemente a la acción sinérgica del tanino de la cascarilla de cacao y los lípidos de la torta de semilla de maracuyá e individual de cascarilla de cacao sobre los protozoos ruminales y la posible merma de la población de arqueas metanógenas (**Fandiño et al. 2020**). Esto se debe quizá al efecto directo de los TC sobre la comunidad de arqueas metanógenas o indirecto sobre la población de protozoos ruminales y la inhibición de la capacidad de síntesis de CH₄ (**Ku-Vera et al. 2020**). Efectos atribuidos a: 1) interrupción de la unión inter-especies (metanógeno-protozoo) por el efecto del TC sobre la adhesina proteica o parte de la envoltura celular e inhibición en el traspaso de hidrogeno y consecuente crecimiento de metanógenos (**Tavendale et al. 2005**), 2) baja disponibilidad de nutrientes para los microorganismos ruminales como efecto indirecto de la formación de complejos tanino-proteína en el rumen que serán liberadas en las partes bajas del tracto gastrointestinal (abomaso y duodeno) (**Mueller-Harvey 2006**), 3) reducción de la disponibilidad de amoníaco en el rumen (**Jayanegara et al. 2012**) y 4) la acción de los TC sobre la disponibilidad de hidrogeno para la reducción de CO₂ a CH₄ (**Naumann et al. 2017**). Por otra parte, la mayor producción de gas observada en T2 se debe probablemente a la mayor proporción de carbohidratos estructurales (**Rufino-Moya et al. 2019**) y usencia de TC en la dieta que probablemente favorecen a la actividad y crecimiento de metanógenos y protozoos en el rumen (**Menci et al. 2021**). Resultados que concuerdan con los expuestos por **Min et al. (2021)** quienes evidenciaron una reducción significativa de la producción total de gas y CH₄ (38% y 71% respectivamente) comparados con novillos alimentados sin adición de TC.

4.2.3. Comportamiento productivo

La mayor GDP observada en T1 y T3 se encuentra relacionada probablemente a la capacidad del tanino de mejorar la utilización de nutrientes al formar complejos con la proteína de la dieta (**Pimentel et al. 2021**), incrementar el flujo duodenal de aminoácidos y proteína microbiana (**Orlandi et al. 2015**), reducir la producción de GEI (**Orzuna-Orzuna et al. 2021**), con el posterior ahorro de energía (**Yang et al. 2016**) y, controlar la infestación de parásitos gastrointestinales (**Huang et al. 2018**). Resultados que concuerdan con los encontrados por **Rivera-Méndez et al. (2017)**.

El mayor CMST y CMSI observados en T1 y T3 se debe probablemente a la menor cantidad de carbohidratos estructurales de la dieta y su influencia sobre la capacidad de llenado ruminal controladas por las necesidades energéticas y factores metabólicos en dietas ricas en granos o influenciada por las características físicas del alimento, especialmente en dietas con cantidades elevadas de fibra, aportadas principalmente por subproductos de la agroindustria o fuentes forrajeras fisiológicamente maduras (**Moore et al. 2020**). Del mismo modo, la menor CA y mayor EA en T2 está influenciada por la relación existente entre el menor CMSI y GDP (**Arelovich et al. 2008**). Resultados que concuerdan por los expuestos por **Goulart et al. (2020)**.

El menor CMST y CMSI en T2 se debe probablemente a la formación de barreras físicas en el alimento (biofilm) por la presencia de ácidos grasos libres en el rumen que afectan la acción microbiana (**Jenkins 1993**) o, por la elevación plasmática del péptido 1 similar al glucagón (GLP-1) (**Bradford et al. 2008**) y colecistoquinina (CCC) en respuesta a un mayor flujo de ácidos grasos insaturados al duodeno (**Choi et al. 2000**). Resultados similares fueron expuestos por **Boland et al. (2020)** quienes observaron menor CMS en vacas productoras de leche alimentadas con fuentes de ácidos grasos insaturados proporcionadas por la inclusión de aceite de linaza o aceite de soja en la dieta. Del mismo modo **Litherland et al. (2022)** reportan efectos negativos sobre el CMS y producción láctea en vacas alimentadas con ácidos grasos insaturados asociados a un aumento en la concentración de GLP-1 y CCC en la sangre.

4.2.4. Características de la canal

El mayor RCC (%) observada en T3 se debe probablemente a la menor deposición de grasa en los tejidos muscular, subcutáneo y visceral (**Mohammed 2004**). Por otro lado, en el presente estudio se evidenció un mayor EGRI, menor AMLd y menor GDP en T2 como respuesta probablemente a, la presencia de ácidos grasos en la dieta, explicado probablemente por, el menor requerimiento de energía por unidad de masa para la formación de tejido magro y en respuesta al mayor almacenamiento de agua con la proteína del musculo (**Owens *et al.* 1995**). Estos resultados concuerdan con los mencionados por **Volpi-Lagreca *et al.* (2021)** quienes evidenciaron un menor rendimiento de la canal caliente al obtener mayor depósito de tejido adiposo.

4.3.Verificación de la hipótesis

La hipótesis se acepta debido a que las dietas a base de cascarilla de cacao (*Teobromina cacao*) y aceite vegetal influenciaron sobre el comportamiento productivo, función ruminal y características de la canal en toros bajo un sistema feedlot.

CAPITULO VI

6.1.CONCLUSIONES

1. Se evaluó el efecto de dietas a base de cascarilla de cacao y aceite vegetal y se encontraron resultados favorables de estos subproductos derivados de la agroindustria en la alimentación de bovinos
2. Se determinó el consumo de alimento, conversión alimenticia, eficiencia alimenticia, ganancia de peso y características de la canal en toros alimentados en un sistema de engorde intensivo con dietas a base de cascarilla de cacao y aceite vegetal con respuesta positiva para la cascarilla de cacao sola o combinada con aceite vegetal aportados por la torta de semillas de maracuyá
3. Se caracterizó la cinética de degradación ruminal, producción de gas *in vitro* en toros alimentados con dietas a base de cascarilla de cacao y aceite vegetal con respuesta favorable para la cascarilla de cacao sola o combinada con aceite vegetal de torta de semillas de maracuyá por la evidente disminución en la producción de gas *in vitro* y mayor degradación y DIVMS.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Adesogan, AT; Havelaar, AH; McKune, SL; Eilittä, M; Dahl, GE. 2020. Animal source foods: sustainability problem or malnutrition and sustainability solution? Perspective matters. *Global Food Security* 25:100325. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2019.100325>
- AFRC. 1996. Necesidades energéticas y proteicas de los rumiantes. *Acricbia*, 206 p.
- Alba, HDR; Oliveira, RL; Carvalho, ST; Ítavo, LCV; Ribeiro, OL; do Nascimento, NG; Guedes do, N; Dias, M; Bezerra, LR. 2018. Can ruminal inoculum from slaughtered cattle replace inoculum from cannulated cattle for feed evaluation research?. *Semina: Ciências Agrárias* 39(5), 2133-2143.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Arlington, VA, USA. 684 p.
- Arelovich, HM; Abney, CS; Vizcarra, JA; Galyean, ML. 2008. Effects of dietary neutral detergent fiber on intakes of dry matter and net energy by dairy and beef cattle: analysis of published data. *The Professional Animal Scientist* 24(5):375-383. DOI: [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30882-2](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30882-2)
- Baldwin, RL; Connor, EE. 2017. Rumen function and development. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice* 33(3):427-439. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2017.06.001>
- Barros-Rodríguez, M; Oña-Rodríguez, J; Mera-Andrade, R; Artieda-Rojas, J; Curay-Quispe, S; Avilés-Esquivel, D; Guishca-Cunuhay, C. 2017. Degradación ruminal de dietas a base de biomasa pos-cosecha de *Amaranthus cruentus*: efecto sobre los protozoos del rumen y producción de gas *in vitro*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 28(4):812-821. DOI: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13931>
- Beauchemin, KA; Ungerfeld, EM; Eckard, RJ; Wang, M. 2020. Fifty years of research on rumen methanogenesis: lessons learned and future challenges for mitigation. *Animal* 14(S1):s2-s16. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1751731119003100>
- Bodas, R; Prieto, N; García-González, R; Andrés, S; Giráldez, FJ; López, S. 2012. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary

- metabolites. *Animal Feed Science and Technology* 176(1-4):78-93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.010>
- Boland, TM; Pierce, KM; Kelly, AK; Kenny, DA; Lynch, MB; Waters, SM; McKay, ZC. 2020. Feed Intake, Methane Emissions, Milk Production and Rumen Methanogen Populations of Grazing Dairy Cows Supplemented with Various C 18 Fatty Acid Sources. *Animals* 10(12):2380. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani10122380>
- Bradford, BJ; Harvatine, KJ; Allen, MS. 2008. Dietary unsaturated fatty acids increase plasma glucagon-like peptide-1 and cholecystokinin and may decrease premeal ghrelin in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91(4):1443-1450. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0670>
- Cabiddu, A; Salis, L; Tweed, JK; Molle, G; Decandia, M; Lee, MR. 2010. The influence of plant polyphenols on lipolysis and biohydrogenation in dried forages at different phenological stages: *in vitro* study. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90(5):829-835. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.3892>
- Cagua, R. 2021. Dosis de nitrógeno en el comportamiento agronómico y composición bromatológica de *Tithonia diversifolia*. Tesis de licenciatura. Quevedo, Ecuador, Universidad Técnica Estatal de Quevedo. 64 p. Disponible en <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/6155/1/T-UTEQ-118.pdf>
- Calsamiglia, S; Busquet, M; Cardozo, PW; Castillejos, L; Ferret, A. 2007. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science* 90(6):2580-2595. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2006-644>
- Carrillo-Herrera, J; Murillo-Ortiz, M; Herrera-Torres, E; Carrete-Carreón, F; Reyes-Estrada, O; Livas-Calderón, F. 2016. Rendimiento productivo y calidad de la canal de becerros alimentados con un precursor glucogénico. *Abanico veterinario* 6(1): 13-21. Disponible en http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322016000100013
- Carta, S; Nudda, A; Cappai, MG; Lunesu, MF; Atzori, AS; Battaccone, G; Pulina, G. 2020. Cocoa husks can effectively replace soybean hulls in dairy sheep diets—Effects on

- milk production traits and hematological parameters. *Journal of Dairy Science* 103(2):1553-1558. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17550>
- Chalupa, W; Vecciarelli, B; Elser, E; Kronfeld, DS; Sklan, D; Palmquist, DL. 1986. Ruminant fermentation "*in vitro*" of long chain fatty acids. *Journal of Dairy Science* 69(5):1293–301. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(86\)80535-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80535-5)
- Chiriguayo Macías, LE. 2021. Producción del cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis*) y su influencia económica en el Ecuador. Tesis licenciatura. Babahoyo, Ecuador, Universidad Técnica de Babahoyo. 21 p. Disponible en <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/9349/E-UTB-FACIAG-ING%20AGROP-000148.pdf?sequence=1>
- Choi, BR; Palmquist, DL; Allen, MS. 2000. Cholecystokinin mediates depression of feed intake in dairy cattle fed high fat diets. *Domestic Animal Endocrinology* 19(3):159-175. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(00\)00075-8](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(00)00075-8)
- Corrales-Arévalo, HH; de Lara, RR; Hernández-Aquino, S; Avelar-Lozano, E; González-Maldonado, J. 2021. Pregnancy rate in ewes injected with zinc oxide during an estrus synchronization protocol: fertility in ewes injected with zinc oxide during a synchronization protocol. *Agro Productividad* 14(7): 97-104. DOI: <https://doi.org/10.32854/agrop.v14i6.1948>
- De Oliveira Silva, R; Barioni, LG; Hall, JAJ; Folegatti Matsuura, M; Zanett Albertini, T; Fernandes, FA; Moran, D. 2016. Increasing beef production could lower greenhouse gas emissions in Brazil if decoupled from deforestation. *Nature Climate Change*, 6(5):493–497. DOI:10.1038/nclimate2916
- Elliott, CL; Edwards, JE; Wilkinson, TJ; Allison, GG; McCaffrey, K; Scott, MB; Rees-Stevens, P; Kingston-Smith, AH; Huws, SA. 2018. Using Omic approaches to compare temporal bacterial colonization of *Lolium perenne*, *Lotus corniculatus*, and *Trifolium pratense* in the rumen. *Frontiers in Microbiology* 9:2184. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02184>

- Endres, MI; Schwartzkopf-Genswein, K. 2018. Overview of cattle production systems. In *Advances in cattle welfare*. 1-26 p. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100938-3.00001-2>
- Fandiño, I; Fernandez-Turren, G; Ferret, A; Moya, D; Castillejos, L; Calsamiglia, S. 2020. Exploring additive, synergistic or antagonistic effects of natural plant extracts on *in vitro* beef feedlot-type rumen microbial fermentation conditions. *Animals* 10(1):173. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani10010173>
- FAO (Food and Agriculture Organisation). 2013. Tackling climate through livestock: A global assessment of emissions and mitigation opportunities. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-i3437e.pdf>
- Ferrari, RA; Colussi, F; Ayub, RA. 2004. Caracterização de subprodutos da industrialização do maracujá- aproveitamento das sementes. *Revista Brasileira de Fruticultura* 26:101-102. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452004000100027>
- Ferreira, ACS; Watanabe, PH; Mendonça, IB; Ferreira, JL; Nogueira, BD; Vieira, AV; Freitas, ER. 2021. Effects of passion fruit seed (*Passiflora edulis*) on performance, carcass traits, antioxidant activity, and meat quality of growing rabbits. *Animal Feed Science and Technology* 275:114888. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2021.11
- Goulart, RS; Vieira, RA; Daniel, JL; Amaral, RC; Santos, VP; Toledo Filho, SG; Nussio, LG. 2020. Effects of source and concentration of neutral detergent fiber from roughage in beef cattle diets on feed intake, ingestive behavior, and ruminal kinetics. *Journal of Animal Science* 98(5): skaa107. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/skaa107>
- Guerra, IE; Vivas, LM; Laiño, AS; Romero, MR; Villacís, MM; Martínez, AG; Barrera-Alvarez, A. 2017. Composición bromatológica y degradabilidad ruminal *in situ* de residuos agroindustriales de maracuyá (*Passiflora edulis*) y plátano (*Musa paradisiaca*). *Ciencia y Tecnología* 10(2):63-68. DOI: <https://doi.org/10.18779/cyt.v10i2.209>
- Habib, G. 2018. Estimation and mitigation of GHG emissions from ruminant livestock in Pakistan. *Animal Production Science* 59(8):1558-1567. DOI: 10.1071/an17743

- Haque, MN. 2018. Dietary manipulation: a sustainable way to mitigate methane emissions from ruminants. *Journal of Animal Science and Technology* 60(1):15. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40781-018-0175-7>
- Hartman, L. Lago, RCA. 1973. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory Practices* 22:475-6.
- Hidalgo Cumbicos, MR; González, ONV; Cevallos, HAV. 2020. Análisis situacional de la actividad ganadera en la parroquia Palmal del cantón Arenillas. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas* 3(2):124-130. Disponible en <http://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/277/309>
- Huang, Q; Liu, X; Zhao, G; Hu, T; Wang, Y. 2018. Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. *Animal Nutrition* 4(2):137-150. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.09.004>
- INEC (Instituto Nacional de Estadística y Censos). 2020. Boletín Técnico Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua, 2019 mayo 2020. Disponible en https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2019/Boletin%20Tecnico%20ESPAC_2019.pdf
- INEC (Instituto Nacional de Estadística y Censos). 2021a. Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua 2020 mayo 2021. Disponible en https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2020/Presentacion%20ESPAC%202020.pdf
- INEC (Instituto Nacional de Estadística y Censos). 2021b. Boletín Técnico Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua, 2020 mayo 2021. Disponible en https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2020/Boletin%20Tecnico%20ESPAC%202020.pdf
- Intriago, FM; Zenteno, MC; Neto, JF; Galeas, MP; Caicedo, WB; Moyano, MA. 2018. Cadena de comercialización del cacao nacional en la provincia de Los Ríos, Ecuador.

Ciencia Sociales y Económicas 11(1):63-69. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6550318>

Janssen, PH. 2010. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Animal Feed Science and Technology* 160:1–22. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.07.002>

Jenkins, TC. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *Journal of dairy science*, 76(12), 3851-3863. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77727-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77727-9)

Jenkins, TC; Wallace, RJ; Moate, PJ; Mosley, EE. 2008. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *Journal of Animal Science* 86(2), 397-412. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0588>

Johnson, KA; Johnson, DE. 1995. Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science* 73:2483-2492. DOI: <https://doi.org/10.2527/1995.7382483x>

Jouany, JP; Morgavi, DP. 2007. Use of ‘natural’ products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Animal* 1(10):1443-1466. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1751731107000742>

Kliem, KE; Humphries, DJ; Kirton, P; Givens, DI; Reynolds, CK. 2019. Differential effects of oilseed supplements on methane production and milk fatty acid concentrations in dairy cows. *Animal* 13(2), 309-317. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1751731118001398>

Krishnamoorthy, U; Soller, H; Steingass, H; Menke, KH. 1991. A comparative study on rumen fermentation of energy supplements *in vitro*. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 65:28-35. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.1991.tb00237.x>

Ku-Vera, JC; Jiménez-Ocampo, R; Valencia-Salazar, SS; Montoya-Flores, MD; Molina-Botero, IC; Arango, J; Solorio-Sánchez, FJ. 2020. Role of secondary plant

- metabolites on enteric methane mitigation in ruminants. *Frontiers in Veterinary Science* 7:584. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00584>
- Lean, IJ; Golder, HM; Hall, MB. 2014. Feeding, evaluating, and controlling rumen function. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice* 30(3):539-575. DOI:10.1016/j.cvfa.2014.07.003
- Lee, MA; Todd, A; Sutton, MA; Chagunda, MG; Roberts, DJ; Rees, RM. 2017. A time-series of methane and carbon dioxide production from dairy cows during a period of dietary transition. *Cogent Environmental Science* 3(1):1385693. DOI: <https://doi.org/10.1080/23311843.2017.1385693>
- Lee, MR; Tweed, JK; Cookson, A; Sullivan, ML. 2010. Immunogold labelling to localize polyphenol oxidase (PPO) during wilting of red clover leaf tissue and the effect of removing cellular matrices on PPO protection of glycerol-based lipid in the rumen. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90(3):503-510. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.3848>
- Li, Y; Meng, Z; Xu, Y; Shi, Q; Ma, Y; Aung, M; Zhu, W. 2021. Interactions between anaerobic fungi and methanogens in the rumen and their biotechnological potential in biogas production from lignocellulosic materials. *Microorganisms* 9(1):190. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010190>
- Li, Y; Shen, Y; Niu, J; Guo, Y; Pauline, M; Zhao, X; Li, J. 2021. Effect of active dry yeast on lactation performance, methane production, and ruminal fermentation patterns in early-lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 104(1):381-390. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18594>
- Litherland, NB; Beaulieu, AD; Reynolds, CK; Drackley, JK. 2022. Effects of esterification, saturation and amount of fatty acids infused into the rumen or abomasum in lactating dairy cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. DOI: <https://doi.org/10.1111/jpn.13690>
- Liu, K; Zhang, Y; Yu, Z; Xu, Q; Zheng, N; Zhao, S; Wang, J. 2021. Ruminal microbiota–host interaction and its effect on nutrient metabolism. *Animal Nutrition* 7(1):49-55. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.12.001>

- Lopes, RM; Sevilha, AC; Faleiro, FG; Silva, DBD; Vieira, RF; Agostini-Costa, TDS. 2010. Estudo comparativo do perfil de ácidos graxos em semente de Passifloras nativas do cerrado brasileiro. Revista brasileira de fruticultura, 32, 498-506. Disponible en <https://www.scielo.br/j/rbf/a/SFMmpJT3xNCKzRfRjfrDTfr/?format=pdf&lang=pt>
- Malacrida, CR; Jorge, N. 2012. Yellow passion fruit seed oil (*Passiflora edulis f. flavicarpa*): physical and chemical characteristics. Brazilian Archives of Biology and Technology 55(1):127-134. Disponible en <https://www.scielo.br/j/babt/a/3j9Q6CkdqFkMy5FZSKBfNbD/?format=pdf&lang=en>
- Manso, T; Gallardo, B; Guerra-Rivas, C. 2016. Modifying milk and meat fat quality through feed changes. Small Ruminant Research 142, 31-37. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.03.003>
- McAllister, TA; Stanford, K; Chaves, AV; Evans, PR; Eustaquio de Souza Figueiredo, E; Ribeiro, G. 2020. Nutrition, feeding and management of beef cattle in intensive and extensive production systems. Animal Agriculture 75–98. DOI: 10.1016/b978-0-12-817052-6.00005-7
- Menci, R; Coppa, M; Torrent, A; Natalello, A; Valenti, B; Luciano, G; Niderkorn, V. 2021. Effects of two tannin extracts at different doses in interaction with a green or dry forage substrate on in vitro rumen fermentation and biohydrogenation. Animal Feed Science and Technology 278:114977. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114977>
- Menke, KH; Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Animal Research and Development 28: 7-55.
- Min, BR; Pinchak, WE; Hume, ME; Anderson, RC. 2021. Effects of Condensed Tannins Supplementation on Animal Performance, Phylogenetic Microbial Changes, and In Vitro Methane Emissions in Steers Grazing Winter Wheat. Animals 11(8):2391. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani11082391>

- Mohammed, AM. 2004. Effect of Slaughter Weight On Meat Production Potential of Western Sudan Baggara Cattle. Tesis Doctoral. Sudán, University of Khartoum. 167 p. Disponible en <http://api.uofk.edu:8080/api/core/bitstreams/4abe4192-5f3b-46ff-a2dc-769c2da2d43d/content>
- Moore, KJ; Collins, M; Nelson, CJ; Redfearn, DD. 2020. Forages (The Science of Grassland Agriculture), Digestibility and Intake. 609–631. DOI: 10.1002/9781119436669.ch34
- Mueller-Harvey, I. 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86(13):2010-2037. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2577>
- Naumann, HD; Tedeschi, LO; Zeller, WE; Huntley, NF. 2017. The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. *Revista Brasileira de Zootecnia* 46:929-949. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017001200009>
- Newbold, CJ; Ramos-Morales, E. 2020. Review: Ruminant microbiome and microbial metabolome: effects of diet and ruminant host. *Animal* 14:S1. DOI: 10.1017/S1751731119003252
- Núñez Torres, OP; Barros Rodriguez, M; Sanchez, D; Guishca-Cunuhay, C. 2018. Comportamiento productivo, degradación ruminal y producción de gas *in vitro* en ovinos alimentados con dietas a base de residuos pos-cosecha de *Chenopodium quinoa*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 29(3): 765-773. DOI: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i3.14836>
- Núñez-Torres, O. P; Rodríguez-Barros, MA. 2019. Subproductos agrícolas, una alternativa en la alimentación de rumiantes ante el cambio climático. *Journal of the Selva Andina Animal Science* 6(1):24-37. Disponible en http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2311-25812019000100004&script=sci_arttext
- Orlandi, T; Kozloski, GV; Alves, TP; Mesquita, FR; Ávila, SC. 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. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.012>
- Ørskov, ER; Hovell, FDB; Mould, F. 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production* 5:195-213. Disponible en https://www.fao.org/WAICENT/faoINFO/AGRICULT/AGA/AGAP/FRG/TAP53/53_1.pdf
- Ørskov, ER; McDonald, I. 1979. The estimate of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science* 92:499-503. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0021859600063048>
- Orzuna-Orzuna, JF; Dorantes-Iturbide, G; Lara-Bueno, A; Mendoza-Martínez, GD; Miranda-Romero, LA; Hernández-García, PA. 2021. Effects of Dietary Tannins' Supplementation on Growth Performance, Rumen Fermentation, and Enteric Methane Emissions in Beef Cattle: A Meta-Analysis. *Sustainability* 13(13):7410. DOI: <https://doi.org/10.3390/su13137410>
- Owens, FN; Gill, DR; Secrist, DS; Coleman, SW. 1995. Review of some aspects of growth and development of feedlot cattle. *Journal of animal science* 73(10):3152-3172. DOI: <https://doi.org/10.2527/1995.73103152x>
- Patra, AK; Saxena, J. 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91(1):24-37. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.4152>
- Pimentel, PRS; Pellegrini, CB; Lanna, DPD; Brant, LMS; Ribeiro, CVDM; Silva, T. M; Oliveira, RL. 2021. Effects of *Acacia mearnsii* extract as a condensed-tannin source on animal performance, carcass yield and meat quality in goats. *Animal Feed Science and Technology* 271:114733. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114733>
- Pinto, CS; Magalhães, ALR; Teodoro, AL; Gois, GC; Vêras, RML; Campos, Nascimento, D; Andrade, A; Oliveira, LP; Lima, IE. 2020. Potential alternative feed sources for ruminant feeding from the biodiesel production chain by-products. *South African Journal of Animal Science* 50(1):69-77. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v50i1.8>

- Price, ML; Van Scoyoc, S; Butler, LG. 1978. A critical evaluation of the vanillin reaction assay for tannin in sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 26, 1214–1218. DOI:10.1021/jf60219a031
- Ramaiya, SD; Bujang, JS; Zakaria, MH. 2018. Nutritive values of passion fruit (*Passiflora* species) seeds and its role in human health. *Journal of Agriculture Food and Development* 4(1):23-30. Disponible en https://www.researchgate.net/profile/Shiamala-Ramaiya/publication/329363351_Nutritive_Values_of_Passion_Fruit_Passiflora_Species_Seeds_and_Its_Role_in_Human_Health/links/5c04cafd299bf1a3c15e47ca/Nutritive-Values-of-Passion-Fruit-Passiflora-Species-Seeds-and-Its-Role-in-Human-Health.pdf
- Rivera-Méndez, C; Plascencia, A; Torrentera, N; Zinn, RA. 2017. Effect of level and source of supplemental tannin on growth performance of steers during the late finishing phase. *Journal of Applied Animal Research* 45(1):199-203. DOI: <https://doi.org/10.1080/09712119.2016.1141776>
- Rufino-Moya, PJ; Blanco, M; Lobón, S; Bertolín, JR; Armengol, R; Joy, M. 2019. The inclusion of concentrate with quebracho is advisable in two forage-based diets of ewes according to the *in vitro* fermentation parameters. *Animals* 9(7):451. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani9070451>
- Salem, AFZ; El-Adawy, M; Gado, H; Camacho, LM; Ronquillo, M; Alsersy, H; Borhami, BE. 2011. Effects of exogenous enzymes on nutrients digestibility and growth performance in sheep and goats. *Tropical Subtropical Agroecosystem* 14: 867-874.
- Sánchez Laíño, A; Torres Navarrete, E; Espinoza Guerra, Í; Montenegro Vivas, L; Barba Capote, C; García Martínez, A. 2019. Valoración nutricional *in situ* de dietas con harina de maracuyá (*Passiflora edulis*) en sustitución del maíz (*Zea mays*). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 30(1):149-157. Disponible en http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172019000100015&script=sci_arttext&tlng=en

- Seidavi, A; Tavakoli, M; Rasouli, B; Corazzin, M; Salem, AZ. 2018. Application of some trees/shrubs in ruminant feeding: a review. *Agroforestry Systems* 1-12. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0313-8>
- Soltan, YA; Patra, AK. 2021. *Animal Feed Science and Nutrition - Production, Health and Environment: Ruminal Microbiome Manipulation to Improve Fermentation Efficiency in Ruminants*. DOI: 10.5772/intechopen.101582
- Sun, K; Liu, H; Fan, H; Liu, T; Zheng, C. 2021. Research progress on the application of feed additives in ruminal methane emission reduction: a review. *PeerJ* 9:e11151. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.11151>
- Tassone, S; Fortina, R; Peiretti, PG. 2020. *In Vitro* techniques using the DaisyII incubator for the assessment of digestibility: A review. *Animals* 10(5): 775. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani10050775>
- Tavendale, MH; Meagher, LP; Pacheco, D; Walker, N; Attwood, GT; Sivakumaran, 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* 123:403-419. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.037>
- Theodorou, M; Williams, B; Dhanoa, M; Mcallan, A; France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science Technology* 48:185-197. DOI: [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90171-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6)
- Thompson, LR; Rowntree, JE. 2020. Invited review: methane sources, quantification, and mitigation in grazing beef systems. *Applied Animal Science* 36(4):556-573. DOI: <https://doi.org/10.15232/aas.2019-01951>
- Turk, J. 2016. Meeting projected food demands by 2050: Understanding and enhancing the role of grazing ruminants. *Journal of Animal Science* 94(suppl_6):53-62. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2016-0547>

- Ugbogu, EA; Elghandour, MM; Ikpeazu, VO; Buendía, GR; Molina, OM; Arunsi, UO; Salem, AZ. 2019. The potential impacts of dietary plant natural products on the sustainable mitigation of methane emission from livestock farming. *Journal of Cleaner Production* 213:915-925. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.12.233>
- USDA (U.S. Department of Agriculture). 2021a. Clasificación de res del USDA: La Medición del Área Magra del Ribeye. Disponible en <https://www.beefresearch.org/grading/spanish/LMDisplay.html?chp=4&sc=7>
- USDA (U.S. Department of Agriculture). 2021b. Clasificación de res del USDA: La Medición del Espesor de Grasa del Ribeye. Disponible en <https://www.beefresearch.org/grading/spanish/LMDisplay.html?chp=4&sc=5>
- Vásquez, ZS; de Carvalho Neto, DP; Pereira, GV; Vandenberghe, LP; de Oliveira, PZ; Tiburcio, PB; Soccol, CR. 2019. Biotechnological approaches for cocoa waste management: A review. *Waste management* 90:72-83. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.04.030>
- Vasta, V; Daghighi, M; Cappucci, A; Buccioni, A; Serra, A; Viti, O; Mele, O. 2019. Invited review: Plant polyphenols and rumen microbiota responsible for fatty acid biohydrogenation, fiber digestion, and methane emission: Experimental evidence and methodological approaches. *Journal of Dairy Science* 102(5):3781-3804. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14985>
- Vasta, V; Nudda, A; Cannas, A; Lanza, M; Priolo, A. 2008. Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 147(1-3), 223-246. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.09.020>
- Vélez-Terranova, M; Gaona, RC; Sánchez-Guerrero, H. 2014. Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 17(3):489-499. Disponible en <https://www.redalyc.org/pdf/939/93935728004.pdf>

- Volpi-Lagreca, G; Gelid, LF; Alende, M; Bressan, ER; Pordomingo, AB; Pordomingo, AJ. 2021. Effect of placement weight and days on feed on feedlot cattle performance and carcass traits. *Livestock Science* 244:104392. DOI:10.1016/j.livsci.2020.104392
- Willers, CD; Maranduba, HL; de Almeida Neto, JA; Rodrigues, LB. 2017. Environmental impact assessment of a semi-intensive beef cattle production in Brazil's northeast. *The International Journal of Life Cycle Assessment* 22(4):516-524. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11367-016-1062-4>
- Yang, K; Wei, C; Zhao, G; Xu, Z; Lin, S. 2016. Dietary supplementation of tannic acid modulates nitrogen excretion pattern and urinary nitrogenous constituents of beef cattle. *Livestock Science* 191:148-152. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.07.020>
- Zanetti, LH. 2018. Óleo de semente de maracujá (*Passiflora edulis*) na alimentação de frangos de corte. Tesis Doctoral. Brasil, Universidade Estadual Paulista. 43 p. Disponível em https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/158295/zanetti_lh_dr_botfca_parr.pdf?sequence=3&isAllowed=y

8. ANEXOS



Figura 2. Sacrificio de animales



Figura 3. Pesaje de muestras



Figura 4. Preparación de saliva artificial e inóculo ruminal.



Figura 5. Colocación de inóculo ruminal: saliva artificial (relación 30:70)



Figura 6. Colocación de tapas en las botellas de ámbar



Figura 7. Sellado hermético de las botellas de ámbar



Figura 8. Medición de la producción de gas



Figura 9. Colocación de bolsitas en equipos Daisy^{II} para degradación y digestibilidad *in vitro* de nutrientes



Figura 10. Incubación de muestras en equipos Daisy^{II}