

## Nota Técnica

# Calidad de fibra y producción de metano en ensilados de leguminosas con fuentes de carbohidratos

Michael López-Herrera<sup>1ES</sup>, Mauricio Arias-Gamboa<sup>A2</sup>, Andrés Alpizar-Naranjo<sup>A3</sup>, Miguel Castillo-Umaña<sup>A4</sup>.

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de la fuente de carbohidratos y la especie de leguminosa sobre la calidad de la fibra, producción de gas y la concentración de metano en ensilados. El experimento se realizó entre agosto 2015 y febrero 2016. Se utilizó un diseño factorial 4x4, con cuatro leguminosas (*Vigna unguiculata*, *Arachis pintoii*, *Cratylia argentea*, *Erythrina poeppigiana*) y 4 fuentes de carbohidratos (melaza de caña de azúcar, pulpa de cítricos deshidratada, maíz molido y guineo cuadrado [GC]). Se utilizaron microsilos, que fueron almacenados por 50 días y en la apertura se midieron los indicadores de interés. El análisis de la información se realizó por medio de modelos lineales y mixtos. Se determinó que en promedio las mezclas ensiladas con leguminosas arbustivas generaron mayor contenido de fibra, aunque de menor calidad, debido a un mayor contenido de lignina en comparación con los ensilados de leguminosas herbáceas. Por otra parte, el GC fue la fuente de carbohidratos que alteró la cantidad y calidad de la fibra en los ensilados, debido al mayor contenido de FDN y lignina del fruto. Estas variaciones en la calidad y cantidad de la fibra influenciaron la producción de gas (ml/gMS), mientras que la producción de metano (L/kgMS) en el gas fue afectada por la calidad de la fibra y el contenido de taninos condensados en el forraje. En conclusión, la especie y la fuente de carbohidratos generan diferencias en la cantidad y calidad de la fibra, lo que a su vez repercute sobre la producción de gas y concentración de metano de los ensilados de leguminosas. Es así como los ensilados de *Arachis* o

<sup>A1</sup> Universidad Nacional de Costa Rica, Escuela de Ciencias Agrarias. Heredia, Costa Rica.

<sup>1ES</sup> Universidad de Costa Rica, Escuela de Zootecnia, Centro de Investigación en Nutrición Animal, San José, Costa Rica. Autor para correspondencia: [michael.lopez@ucr.ac.cr](mailto:michael.lopez@ucr.ac.cr) (<https://orcid.org/0000-0003-4301-9900>).

<sup>A2</sup> Correo electrónico: [luís.arias.gamboa@una.cr](mailto:luís.arias.gamboa@una.cr) (<https://orcid.org/0000-0003-1214-5648>).

<sup>A3</sup> Correo electrónico: [andres.alpizar.naranjo@una.cr](mailto:andres.alpizar.naranjo@una.cr) (<https://orcid.org/0000-0002-9612-4918>).

<sup>A4</sup> Correo electrónico: [miguel.castillo.umana@una.cr](mailto:miguel.castillo.umana@una.cr) (<https://orcid.org/0000-0001-8114-744X>).

Recibido: 07 abril 2021      Aceptado: 01 julio 2021

Esta obra está bajo licencia internacional Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObrasDerivadas 4.0.



*Erythrina* combinados con maíz fueron los de menor producción y concentración de metano.

**Palabras clave:** Gases de efecto invernadero, conservación de forrajes, fermentación, rumiantes, nutrición animal, piensos, ensilaje.

## ABSTRACT

**Fiber quality and methane production in legume silage with carbohydrate sources.** The objective of this research was to determine the effect of the carbohydrate source and the legume species on fiber quality, gas production and methane concentration in silage. The experiment was carried out between August 2015 and February 2016. A 4x4 factorial design was used, with four legumes (*Vigna unguiculata*, *Arachis pintoii*, *Cratylia argentea*, *Erythrina poeppigiana*) and 4 sources of carbohydrates (sugar cane molasses, dried citrus pulp, ground corn and Square banana [GC]). Microsilos were used, which were stored for 50 days and indicators of interest were measured at the opening. The information analysis was made using linear and mixed models. It was determined that, the mixtures ensiled with shrub legumes generated higher fiber content, although of lower quality, due to a higher content of lignin compared to the silage of herbaceous legumes. On the other hand, the CG was the source of carbohydrates that altered the quantity and quality of the fiber in the silage, due to the higher content of NDF and lignin of the fruit. These variations in the quality and quantity of the fiber influenced PGas production (ml/gDM) while, methane production (L/kgDM) in the gas was affected by the quality of the fiber and the content of condensed tannins in the forage. In conclusion, the species and the source of carbohydrates generate differences in the quantity and quality of the fiber, which affects the gas production and methane concentration of the legume silage. This is how the silage of *Arachis* or *Erythrina* combined with ground corn was the one with the lowest production and concentration of methane.

**Keywords:** Greenhouse gases, forage conservation, fermentation, ruminants, animal nutrition, feeds, silage.

## INTRODUCCIÓN

Los rumiantes tienen la capacidad para convertir los materiales ricos en celulosa, como los pastos y forrajes, en alimentos para consumo humano, gracias a los microorganismos que habitan en sus preestómagos (Dijkstra et al., 2011). Los preestómagos de los rumiantes funcionan como cámaras de fermentación donde

habitan diferentes especies de bacterias, hongos y protozoarios; que tienen la capacidad de degradar los componentes de la pared celular en moléculas más sencillas que son utilizadas como fuente de energía (Duncan, 2014).

Como derivados de estos procesos de degradación se generan ácidos grasos volátiles (AGV) como productos finales de la actividad microbiana, principalmente acetato, propionato y butirato que el rumiante absorbe a través del rumen para su propio uso (Buddle et al., 2011). Durante el proceso de formación de los AGV, especialmente con el acetato y butirato, se liberan moléculas de gases como dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e hidrógeno ( $\text{H}_2$ ), mientras que en la formación del propionato se consume principalmente  $\text{H}_2$  (Jiao et al., 2013). Los organismos metanogénicos oxidan el hidrógeno ( $\text{H}_2$ ) molecular y se reduce el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) a metano ( $\text{CH}_4$ ), este proceso se conoce como metanogénesis (Alayón et al., 2018). Aunque la producción de metano se concibe como un proceso negativo, debido al pobre valor nutricional y la subsecuente pérdida de energía que genera su producción (Bouchard, 2011; Bonilla et al., 2020).

La concentración de este gas depende del tipo de carbohidrato que se esté fermentando en el ambiente ruminal; de este modo, dietas altas en fibra aumentan la producción de acetato y butirato (Duncan, 2014), en consecuencia se incrementa la síntesis de  $\text{CH}_4$  en el rumen. Por el contrario, dietas más altas en almidones predisponen la producción de propionato en el rumen lo que reduce la producción de  $\text{CH}_4$  entérico (Jiao et al., 2013). Las dietas de bovinos en condiciones tropicales utilizan pastos como fuente principal de alimento (Poppi et al., 2018); además, se utilizan plantas arbustivas como alternativa para proveer nutrientes a los animales de manera rentable (Franzel et al., 2014).

Para Archiméde et al. (2011), el uso de leguminosas tropicales reduce las emisiones de  $\text{CH}_4$  con respecto a los pastos C4, debido a que poseen mayor contenido de nitrógeno y poseen metabolitos secundarios que pueden afectar a los microorganismos metanogénicos. La efectividad de los taninos depende de la concentración y cantidad de grupos hidróxilos presentes (Goel y Makkar, 2012), siendo que los taninos condensados reducen la digestión de la fibra y los taninos hidrolizables inhiben el crecimiento y actividad de los microorganismos metanogénicos y los productores de hidrógeno (Bouchard, 2011).

En cuanto a la fuente de carbohidratos, se menciona que el almidón reduce la producción de  $\text{CH}_4$ , ya que disminuye las poblaciones de protozoarios, reduce el pH ruminal y altera la relación acetato-propionato (A:P) (Duncan, 2014). Por su parte, las fibras fermentables, como la pectina, son 2,8 veces más metanogénicas que la xilosa

(componente de la hemicelulosa) y 6,8 veces más que los almidones (Hindrichsen et al., 2004). La capacidad de producción de CH<sub>4</sub> de los azúcares depende del ambiente ruminal, ya que en condiciones de pH mayor a 6 los azúcares se metabolizan mediante la vía del ácido butírico (Hindrichsen et al., 2005), mientras que en condiciones de pH más ácido lo hacen mediante la vía del ácido propiónico (Dijkstra, et al., 2011).

Para Lascano y Cárdenas (2010) los rumiantes producen entre 21 y 25% del total de emisiones de metano antropogénico, por lo que son necesarias las tecnologías que permitan reducir las emisiones sin afectar la producción y rentabilidad de las explotaciones. Sin embargo, la alimentación con granos es limitada e ignora la importancia de los rumiantes como convertidores de alimentos fibrosos no aptos para el consumo humano (Grainger y Beauchemin, 2011). De manera que, se debe establecer un equilibrio entre los beneficios económicos, sociales y ambientales (Lascano y Cárdenas, 2010).

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de la especie de leguminosa y la fuente de carbohidratos sobre la concentración y calidad de la fibra, la producción de gas y la producción de metano en mezclas ensiladas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La cosecha de los forrajes se realizó en la estación lluviosa, en la finca Agroecológica Vocaré ubicada en el cantón de Upala a 180 msnm, con precipitación promedio de 2500 mm anuales y temperatura promedio de 25°C. La etapa experimental se realizó en el Campus Rodrigo Facio de la Universidad de Costa Rica, ubicado en San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica; donde se encuentran los laboratorios del Centro de Investigaciones en Nutrición Animal (CINA) para análisis bromatológicos y de metano.

Las edades de corte de las leguminosas se fijaron de acuerdo con el tipo de forraje (herbáceas o de corte), de manera que no sean forrajes muy maduros con alto contenido de fibra y lignina. Las edades de corte utilizadas fueron: *Vigna unguiculata* (40 días), *Arachis pintoii* (40 días), *Cratylia argentea* (75 días) y *Erythrina poeppigiana* (75 días). Las especies arbustivas fueron cosechadas a 0,60 m de altura, mientras que las leguminosas herbáceas fueron cosechadas al nivel del suelo.

Los niveles de inclusión de las fuentes de carbohidratos fueron: melaza (Me) (6,3% p/p), pulpa de cítricos deshidratada (PCD) (8,4% p/p), maíz molido (Mz) (6,4% p/p) y fruto inmaduro de guineo cuadrado (GC) (*Musa acuminata* x *balbisiana*, Grupo ABB) (6,7% p/p), de manera que proporcionen 5% del total de carbohidratos no fibrosos de la

mezcla. El 5% restante para alcanzar el 10-15% de carbohidratos no fibrosos, fue aportado por las leguminosas. El fruto inmaduro de GC se encontraba en estado inmaduro y completamente engrosado al momento de la cosecha. Todos los materiales fueron picados al introducirlos en una picadora de motor eléctrico, hasta obtener un tamaño de partícula promedio de 2,5cm.

El experimento constó de un diseño factorial completamente aleatorizado (4x4), con 4 fuentes de carbohidratos (melaza de caña de azúcar, pulpa de cítricos deshidratada, maíz molido y fruto de GC) y 4 especies de leguminosas (*Vigna unguiculata*, *Arachis pintoï*, *Cratylia argentea* y *Erythrina poeppigiana*). Todos los tratamientos contaron con 10-15% de carbohidratos no fibrosos para asegurar una adecuada fermentación de acuerdo con lo planteado por Hiriart (2008). A todos los tratamientos se les agregó inóculo bacterial artesanal (elaborado por fermentación anaeróbica durante 30 días, a partir de suero de leche, leche y melaza-*Lactobacillus*  $1,0 \times 10^9$  UFC/ml) (1L/tonelada) con base en el peso en fresco.

El ensilaje se realizó por medio de la técnica de microsilos, para este fin se utilizaron bolsas de polietileno para empaque al vacío con capacidad para 5 kg y con un grosor de 0,0063 mm. Para la elaboración de las mezclas se pesaron todos los ingredientes por separado considerando las proporciones correspondientes a cada tratamiento, una vez hecho esto, se preparó una tanda del tratamiento correspondiente, se mezcló y se distribuyó equitativamente en 4 bolsas, propias para cada uno. Se aproximó la cantidad de 4 kg de mezcla para ensilar.

El material producido fue depositado y compactado a mano, y el aire se extrajo con una aspiradora. Posteriormente, las bolsas se sellaron con cinta plástica adhesiva, se transportaron en vehículo a Montes de Oca y se colocaron en condiciones de laboratorio (25°C y 75% humedad relativa, aproximadamente) para que estuvieran protegidas del ataque de aves, roedores o labores rutinarias que podrían perjudicar el proceso de ensilaje. Todo el proceso de elaboración y sellado de los silos se realizó en la finca Vocaré. Cada tratamiento fue repetido 4 veces (4 bolsas), por lo tanto, el experimento contó con un total de 64 microsilos y cada bolsa se consideró como una unidad experimental.

A los 50 días de fermentación se realizó la apertura de los microsilos, y los ensilados fueron llevados al laboratorio de bromatología de forrajes del CINA para determinar: concentración de carbohidratos solubles en solución detergente neutro (100-FDN), fibra en detergente neutro (FDN) y lignina (Van Soest et al., 1991); además, la concentración de fibra en detergente neutro digestible por medio de la ecuación reportada en Detmann et al. (2008):

$$dFDN = 0,67 \times \{aFDNom - \text{Lignina} \times [1 - (\text{Lignin}/aFDNom)^{0,85}]\}$$

La producción de gas se determinó con un equipo ANKOM Gas Production System siguiendo los pasos descritos en Meale et al. (2012). Para este fin se pesó 1 g de forraje seco molido combinado con licor ruminal de animales fistulados con una dieta conocida (0,5 kg de cítricos; 0,5 kg de concentrado; 0,3 kg de melaza; 0,5 kg de soya; 38 kg ensilaje) con soluciones amortiguadoras y minerales. En cada frasco se agregó 20 ml de licor ruminal, 82ml de solución amortiguadora, macromineral y micromineral. Las mezclas forrajeras fueron incubadas durante 24 horas a  $39 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , en un recipiente de vidrio con capacidad para 250 ml, con el objetivo de cuantificar la producción de gas acumulado. Los valores obtenidos fueron corregidos con un blanco que contenía solamente licor ruminal, la producción de gas fue medida con sensores ubicados en la parte superior de los frascos de vidrio y guardados en el programa informático del incubador ANKOM Gas Production System; el cual calcula la producción de gas a partir de la presión acumulada de gas registrado en el módulo adherido a cada frasco.

Los datos de presión acumulada registrados en psi se transformaron a ml, con base en la ley de Avogadro que indica que 1,0 psi equivale a 6,894757293 kPa, 1 mol ocupa 22,400 ml a  $273,15^\circ\text{K}$  y 101,325 kPa en condiciones ambientales estándar. Con la siguiente ecuación:  $n = p (V/RT)$ , donde n es la producción de gas en mol, p: la presión en kPa, V: el espacio ocupado por el gas, t: temperatura en K y R. Constante de gas:  $8,314472 \text{ L}\cdot\text{kPa}\cdot\text{K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ , la producción de gas =  $n \times 22400$  (Sobalvarro-Mena et al., 2020).

A las 24 horas de incubación se procedió a la colecta del gas, la muestra se tomó directamente en el septo del recipiente utilizando un tubo de Vacutainer de tapón rojo, sin agentes coagulantes y con capacidad para 20 ml. Para la cuantificación de la concentración de metano se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent Technologies modelo 7820<sup>a</sup>, con una columna 19091P-MS4 y un detector de masas de simple cuadrupolo modelo 5977E Agilent Technologies.

La información obtenida se analizó por medio de modelos lineales y mixtos del programa estadístico INFOSTAT (Di Rienzo et al., 2019), considerando como efectos principales la especie de leguminosa y la fuente de carbohidratos utilizada, así como la interacción entre ambos efectos. También se utilizaron contrastes ortogonales para comparar la significancia de los efectos generados por conjuntos de materiales similares sobre una variable; en este caso se consideraron los contrastes que permiten la comparación entre las leguminosas arbustivas y las leguminosas herbáceas.

Para obtener un dato promedio de concentración de taninos condensados en los forrajes utilizados se realizó un metaanálisis que incluye un análisis de varianza con la especie de leguminosa como efecto principal y la concentración de taninos condensados como variable de respuesta. Se utilizaron investigaciones ubicadas entre 1994–2015 (que fueran artículos científicos recuperados de las bases de datos Scopus, Proquest, Springer, CSIRO, CABI, Cambridge Journals, Wiley Online Library) y que involucraran las especies incluidas en este experimento, que fueran estudios donde se usaron estas plantas como recursos forrajeros. Se buscó que hubiera al menos 5 referencias por especie, aunque para asegurar esta cantidad se debió revisar información de investigaciones muy anteriores.

En todo momento, para señalar las diferencias entre medias de los efectos se utilizó la prueba de medias de Tukey con un 95% de confianza. En todo momento se decretó significancia cuando  $p < 0,05$ ; sin embargo, cuando  $p > 0,05$ , pero  $p < 0,1$ , se consideró como tendencia del efecto.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Variables de composición nutricional

La FDN de los tratamientos mostró diferencias significativas por efecto de la especie de leguminosa ( $p < 0,001$ ) y por efecto de la fuente de carbohidratos ( $p < 0,001$ ) (Cuadro 1). De esta manera, los promedios de FDN en las arbustivas *Erythrina* y *Cratylia* fue mayor (44,8%MS y 45,1%MS, respectivamente) en comparación con el promedio de las leguminosas herbáceas, donde el promedio de *Arachis* fue el de menor concentración de FDN (36,5%MS). El análisis de contrastes detectó que el promedio de FDN en las mezclas ensiladas de leguminosas arbustivas fue 5,5 puntos porcentuales mayor ( $p < 0,001$ ) en comparación con el promedio de las mezclas con leguminosas herbáceas.

**Cuadro 1.** Medias de los tratamientos para las variables de composición nutricional y de producción de gas in vitro y metano. San José, Costa Rica.

Leguminosa	CHO*	FDN (% MS)	Lignina (% MS)	dFDN (%FDN)	CSSDN (% MS)	Producción de gas (ml/g MS)	CH <sub>4</sub> (L/kgMS)
<i>Vigna</i>	Melaza	35,9	5,6	58,7	64,1	83,6 <sup>b</sup>	14,8 <sup>c</sup>
	PCD	44,1	6,6	58,9	55,9	107,7 <sup>b</sup>	15,5 <sup>c</sup>
	Maíz	36,7	5,5	59,0	63,4	135,6 <sup>c</sup>	13,7 <sup>b</sup>
	Guineo	47,2	8,5	57,7	52,7	81,4 <sup>a</sup>	15,8 <sup>c</sup>
<i>Arachis</i>	Melaza	36,2	6,7	57,6	63,8	117,7 <sup>b</sup>	12,8 <sup>b</sup>
	PCD	36,2	6,6	58,6	63,8	109,2 <sup>b</sup>	14,6 <sup>c</sup>
	Maíz	31,9	4,9	58,9	68,1	133,3 <sup>c</sup>	10,9 <sup>a</sup>
	Guineo	41,7	8,2	57,1	58,3	84,2 <sup>a</sup>	14,5 <sup>c</sup>
<i>Cratylia</i>	Melaza	44,3	11,2	55,3	55,7	86,8 <sup>a</sup>	12,9 <sup>b</sup>
	PCD	48,4	12,1	55,2	51,6	101,4 <sup>b</sup>	12,5 <sup>b</sup>
	Maíz	42,9	11,3	55,1	57,1	111,4 <sup>b</sup>	14,8 <sup>c</sup>
	Guineo	44,9	11,6	55,2	55,1	75,6 <sup>a</sup>	14,8 <sup>c</sup>
<i>Erythrina</i>	Melaza	42,5	10,5	55,8	57,5	106,4 <sup>b</sup>	11,7 <sup>b</sup>
	PCD	46,4	11,6	55,4	53,6	97,5 <sup>b</sup>	12,9 <sup>b</sup>
	Maíz	42,7	10,6	55,6	57,4	114,9 <sup>b</sup>	10,2 <sup>a</sup>
	Guineo	47,8	12,5	55,1	52,2	74,8 <sup>a</sup>	12,7 <sup>b</sup>
Error estándar		0,923	0,054	0,262	1,651	6,377	0,388
Leguminosa (L)		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Fuente de carbohidratos (C)		<0,001	<0,001	0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Interacción (L x C)		0,154	0,144	0,544	0,154	0,010	<0,001

\* Fuentes de carbohidratos, FDN=Fibra en detergente neutro, dFDN=Fibra en detergente neutro digestible, CSSDN=Carbohidratos solubles en solución detergente neutro, CH<sub>4</sub>=metano, MS=materia seca. Valores con letras distintas en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

En cuanto a la fuente de carbohidratos, el promedio de FDN en los tratamientos cuando se utilizó guineo cuadrado y pulpa de cítricos deshidratada (PCD) fue mayor y sin diferencia entre ellos (45,4%MS y 43,8%MS, respectivamente); comparado con el promedio de los tratamientos en que se utilizó maíz molido y melaza, sin diferencias entre ellos (38,5%MS y 39,7%MS, respectivamente), El tratamiento con mayor concentración de FDN fue el tratamiento en donde se mezclaron *Cratylia*+PCD (48,4%MS) y el de menor concentración de fibra fue *Arachis*+Maíz (31,9%MS), tal y como se observa en el Cuadro 1.

Las concentraciones de FDN obtenidas en esta investigación fueron menores a las reportadas por Chaikong et al. (2017) con ensilados de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*), aunque mayores a las reportadas por Hassanat et al. (2014) con ensilado



de alfalfa (*Medicago sativa*). Estas diferencias en el contenido de FDN, son provocadas por la diferencia de edad de cosecha entre las especies de leguminosa y el hábito de crecimiento de estas (Castro-Montoya y Dickhoefer, 2020). En cuanto al efecto de la fuente de carbohidratos, las diferencias entre los tratamientos provienen del contenido de FDN en cada uno de los materiales utilizados como aditivos. De acuerdo con Mata (2017), las concentraciones de lignina en las fuentes de carbohidratos utilizadas son maíz (5,2%MS), PCD (21,3%MS), la melaza no posee esta fracción. Por otra parte, López-Herrera et al. (2017) señalan que el valor de lignina en el GC se ubica en 8,7%MS.

A pesar de que existen diferencias entre los tratamientos, se puede observar que todos poseen un contenido de FDN menor que los ensilados de pasto estrella publicados por Pineda-Cordero et al. (2016) y de ensilados de los pastos Camerún y King Grass reportados en López-Herrera et al. (2017) y López-Herrera et al. (2019). Lo anterior es importante porque los pastos del género *Cenchrus* suelen ser los más utilizados en los sistemas tropicales de producción con bovinos, ya sean frescos o ensilados, y un valor menor de fibra en los alimentos ofrecidos permitiría un mayor consumo de materia seca (MS) por día; debido a que la FDN está relacionada con el consumo de MS por promover el llenado físico del rumen (Sousa, 2017).

La lignina también mostró diferencias significativas entre los tratamientos, debido al efecto de la especie leguminosa ( $p < 0,001$ ) y por la fuente de carbohidratos ( $p < 0,001$ ) (Cuadro 1). Se determinó que el promedio de lignina en las mezclas ensiladas con leguminosas arbustivas fue 1,5 puntos porcentuales mayor ( $p < 0,001$ ) en comparación con el promedio de las mezclas de leguminosas herbáceas. Es así como los tratamientos con *Vigna* y *Arachis* fueron los que mostraron menor concentración de lignina (6,6% MS y 6,4% MS, respectivamente) sin ser diferentes entre ellos, mientras que los ensilados elaborados con *Erythrina* y *Cratylia* fueron los que mostraron mayor contenido en promedio (11,2% MS y 11,6% MS, respectivamente), igualmente, sin ser distintos entre ellos. Por otra parte, los tratamientos en los que se utilizó maíz y melaza fueron los que mostraron menor promedio de concentración de lignina (8,1%MS y

8,4%MS, respectivamente), sin mostrar diferencias entre ellos. Por su parte, los materiales en los que se utilizó GC fueron los de mayor concentración (10,2%MS), el tratamiento con mayor promedio fue el de *Erythrina*-GC, mientras que el de menor contenido fue el *Arachis*-Mz (Cuadro 1).

Al comparar los datos obtenidos con la investigación de Rojas-Cordero et al. (2021) con ensilados de Nacedero, se detectó que las leguminosas arbustivas poseen mayor contenido de lignina, mientras que las leguminosas herbáceas mostraron menor concentración de este compuesto. Estas diferencias están determinadas por la edad del forraje y del hábito de crecimiento de las plantas, que definen la concentración final de este compuesto en la planta (Castro-Montoya y Dickhoefer, 2020). López-Herrera y Briceño-Arguedas (2016) indican que el contenido de lignina en la *Cratylia argentea* varía entre 11,9 y 16,3% MS, de acuerdo con la edad del forraje y época del año en que se cosecha el forraje, lo que coincide con los hallazgos de este estudio.

Por otra parte, el maíz es un material con muy bajo contenido de lignina (0,1%MS) (López-Herrera, 2019), al igual que la melaza y la PCD (0,8%MS) (Santos et al., 2014); por la cantidad utilizada dentro de la mezcla es posible que no provoquen cambios sustanciales y las diferencias detectadas fueron matemáticas, aunque carecen de sentido práctico.

En el caso del GC se detectaron diferencias debido a la concentración de lignina en este material, para Happi-Emaga et al. (2008) y Mohapatra et al. (2010), el contenido en los frutos de musáceas puede ubicarse en el ámbito 6-17% MS, de acuerdo con la madurez del fruto; siendo más alta en los frutos inmaduros, es posible que esta sea la razón del mayor promedio en los tratamientos en que se utilizó GC. El aprovechamiento que el bovino obtiene de los componentes de la pared celular está relacionado con la concentración de lignina en el recurso forrajero (Krizsan y Huhtanen, 2013). Esto tiene repercusión en la productividad, ya que define la cantidad de fibra digestible, que se ha

determinado tiene mayor impacto en la productividad comparada con la digestibilidad de cualquier otro nutrimento (Combs, 2014).

La cantidad de fibra en detergente neutro digestible (dFDN) presentó diferencias significativas debidas al efecto de la especie de leguminosa ( $p < 0,001$ ) y al efecto de la fuente de carbohidratos ( $p = 0,001$ ) (Cuadro 1); los tratamientos elaborados con *Cratylia* y *Erythrina* fueron los que presentaron menor contenido de dFDN (55,2% FDN y 55,5% FDN, respectivamente) sin ser distintos entre ellos; mientras que los tratamientos elaborados con *Vigna* fueron los que presentaron mayor contenido de dFDN (58,6% FDN). En cuanto a la fuente de carbohidratos, los materiales en que se utilizó GC fueron los únicos que mostraron diferencias de medias, siendo, además, los de menor contenido promedio de dFDN (56,3% FDN).

Como se ha señalado anteriormente, la FDN y la lignina están determinadas por la edad del forraje y del hábito de crecimiento de las plantas (Castro-Montoya y Dickhoefer, 2020). Por esto, la dFDN también se ve afectada, ya que la ecuación utilizada para estimarla utiliza la concentración de FDN, la concentración de lignina y la relación de ambas en el material (Detmann et al., 2008). Por esta razón, el uso de aditivos con muy bajo contenido de lignina presentan mayores concentraciones de esta fracción y viceversa.

Los carbohidratos solubles en solución detergente neutro (CSSDN) de los tratamientos mostraron diferencias significativas por efecto de la especie de leguminosa ( $p < 0,001$ ) y por efecto de la fuente de carbohidratos ( $p < 0,001$ ) (Cuadro 1). De acuerdo con el análisis de contrastes, el promedio de CSSDN de las mezclas ensiladas con leguminosas herbáceas fue 5,5 puntos porcentuales mayor ( $p < 0,001$ ) en comparación con el promedio de las mezclas con leguminosas arbustivas. En este caso, el promedio de *Arachis* fue mayor (63,5% MS), mientras que las arbustivas *Cratylia* y *Erythrina* mostraron menor promedio (54,9% MS y 55,2% MS, respectivamente), sin ser distintas entre ellas.

En cuanto a la fuente de carbohidratos, los promedios de CSSDN para los tratamientos con maíz y melaza fue mayor (61,5% MS y 60,3% MS, respectivamente) sin diferencias significativas entre ellos, mientras que los promedios de los tratamientos con GC y PCD fueron menores (54,6%MS y 56,2%MS, respectivamente) sin ser distintos entre ellos. La concentración de CSSDN en los forrajes depende de la cantidad de FDN del material, es por esta razón que los datos obtenidos son opuestos y por ende se ven afectados por la edad del forraje y hábito de crecimiento de la planta, tal y como mencionan Castro-Montoya y Dickhoefer (2020).

### Producción de gas y concentración de metano

La producción de gas (PGas) a 24h (mlGas/gMS) mostró diferencias significativas ( $p=0,010$ ), debidas a la interacción entre la especie de leguminosa y la fuente de carbohidratos utilizada (Cuadro 1). El análisis de contrastes encontró que, el promedio de PGas de las mezclas ensiladas con leguminosas herbáceas fue 19,7ml mayor ( $p<0,001$ ) en comparación con el promedio de los tratamientos con leguminosas arbustivas. Los tratamientos que mostraron mayor promedio de producción de gas fueron el Arachis-Mz y el Vigna-Mz (133,3 mlGas/gMS y 135,6 mlGas/gMS, respectivamente) sin ser diferentes entre ellos; mientras que el de menor producción de gas fue el Erythrina-GC (74,8 mlGas/gMS). Se pudo determinar que existe una correlación negativa y significativa ( $\rho=-0,46$ ;  $p<0,001$ ) entre la PGas a 24h y la FDN de los ensilados. Se pudo detectar que el efecto del tipo de carbohidrato tiene mayor peso en la interacción comparado con el de la especie de leguminosa. Siendo el maíz la fuente de carbohidratos con mayores niveles de PGas, mientras que la melaza y el GC fueron las que mostraron menores cantidades de gas producido.

Este efecto de las fuentes de carbohidratos, coincide con Olivo et al. (2017), quienes indican que el maíz y la PCD se consideran fuentes energéticas debido a sus altos contenidos de carbohidratos que pueden ser aprovechados en el rumen. No obstante, el GC también posee un alto contenido de carbohidratos totales, el promedio de PGas

en los tratamientos que se utilizó en esta fuente es menor, esto puede ser debido al contenido de taninos presentes en el fruto fresco que puedan intervenir en la digestibilidad del fruto. De acuerdo con Aboul-Enein et al. (2016) las cáscaras de bananos pueden poseer hasta 24% MS de taninos totales. Además de estos, es posible que exista otro efecto que influye en la digestibilidad del GC relacionado con la concentración de almidón resistente. Varias investigaciones sugieren que en las musáceas existe una proporción considerable de almidón resistente (Ravi y Mustaffa, 2013; Bello-Lara et al., 2014) y que esta resistencia está determinada por el contenido de amilosa (Sajilata et al., 2006); y la concentración de amilosa en los frutos puede variar entre variedades (Dufour et al., 2009). Por esto, se debe realizar más investigación en lo que respecta a la concentración del almidón en los frutos de musáceas utilizados en la alimentación de los rumiantes.

En cuanto al efecto de la especie de leguminosa, los datos obtenidos fueron menores a los publicados por Meale et al. (2012); sin embargo, ambos estudios coinciden en que la especie de leguminosa es un efecto que genera diferencias significativas en la PGas. Además, Kamalak y Cambolat, (2010) señalan que es posible detectar diferencias en la PGas por la madurez del forraje.

Otro factor del forraje que puede influir sobre la PGas es la concentración de taninos. Según Pellikaan et al. (2011) la cantidad de gas producido *in vitro* se ve reducida conforme aumenta la concentración de taninos en el forraje, esto debido a una disminución en la digestibilidad del forraje por efecto de los taninos condensados.

En el Cuadro 2 se exponen los resultados del análisis de estudios para estimar el contenido promedio de taninos condensados en los forrajes utilizados en el presente estudio. Se pudo estimar que *Erythrina* y *Arachis* son los forrajes con mayor concentración promedio de taninos, sin ser diferentes estadísticamente entre ellos; mientras que *Cratylia* y *Vigna* fueron los de menor promedio de concentración de taninos condensados. Tanto la especie, como la edad del forraje y el contenido de

taninos, son efectos que permiten explicar la menor PGas en los tratamientos elaborados con *Erythrina*.

**Cuadro 2.** Resultado del análisis de estudios para estimar la concentración aproximada de taninos condensados en las leguminosas forrajeras analizadas, San José, Costa Rica.

Leguminosa	T.C. (% MS)	N	D.E.	Mínimo (% MS)	Máximo (% MS)	Referencias
<i>Vigna</i>	0,24 <sup>a</sup>	7	0,5	0,001	1,35	Pootaeng-on et al., 2015; Bernal et al., 2008a; Bernal et al., 2008b; Baloyi et al., 2001; Tiemann et al., 2008; Stürm et al., 2007; Heinritz et al., 2012,
<i>Arachis</i>	2,64 <sup>b</sup>	6	1,8	0,82	5,43	Delgado et al., 2010; Lascano 1994; Jackson et al., 1996; Abdalla et al., 2012; Khamseekhiew et al., 2001 López et al., 2004
<i>Cratylia</i>	1,09 <sup>a</sup>	6	2,5	0,001	6,70	Bernal et al., 2008; Heinritz et al., 2012; Kexian et al., 1998; Tiemann et al., 2008; Dos Santos 2007; Stürm et al., 2007
<i>Erythrina</i>	3,35 <sup>b</sup>	5	2,4	0,55	5,10	Kongmanila et al., 2007; Pugalenti et al., 2004; Kongmanila et al., 2012; Kongmanila y Ledin 2009; López et al., 2004

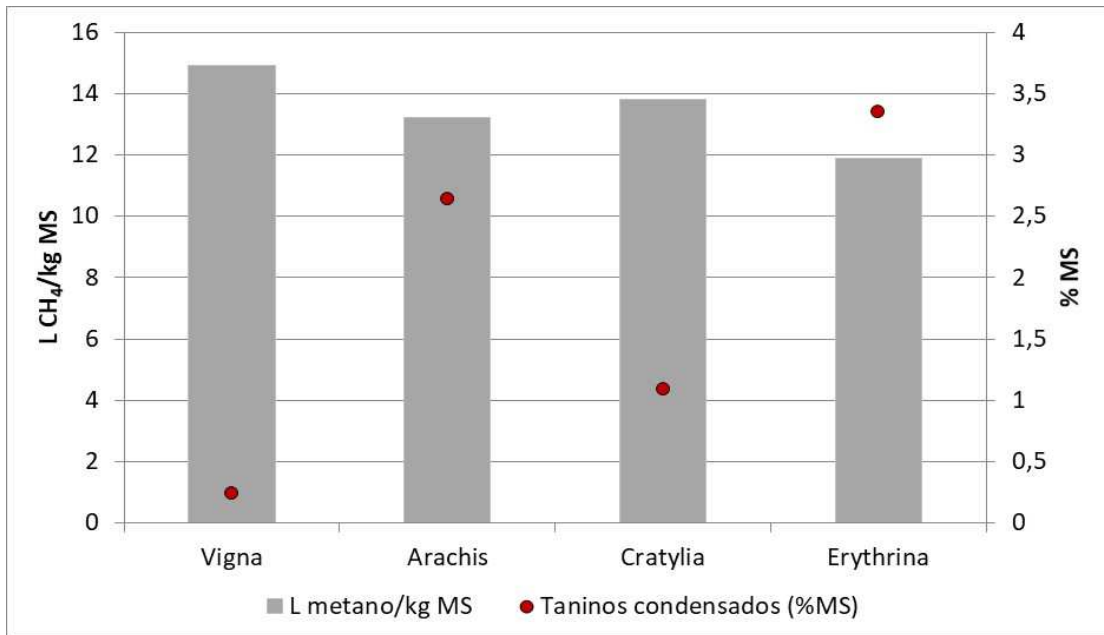
T.C.=Taninos condensados; MS=materia seca; D.E.=Desviación estándar.  
Diferentes letras en la misma columna son diferentes (p<0,05)

La producción de metano (CH<sub>4</sub>) en el gas mostró diferencias significativas (p<0,001) debidas a la interacción entre la especie de leguminosa y la fuente de carbohidratos utilizada (Cuadro 1), siendo el efecto de la especie de leguminosa de mayor peso en la interacción comparado con el efecto de la fuente de carbohidratos. *Vigna* el forraje con mayores niveles de CH<sub>4</sub>, mientras que *Erythrina* fue el material que mostró menores cantidades CH<sub>4</sub>. Los tratamientos que mostraron menor promedio de CH<sub>4</sub> fueron el *Erythrina*-Mz y *Arachis*-Mz (10,2 LCH<sub>4</sub>/kgMS y 10,9 LCH<sub>4</sub>/kgMS, respectivamente) sin ser diferentes entre ellos (Cuadro 1). También, se pudo determinar que la media de concentración de metano en las leguminosas herbáceas fue 1,23 LCH<sub>4</sub>/kgMS mayor en

comparación con la media de las leguminosas arbustivas. Además, se determinó que la media de concentración de metano en las leguminosas con mayor contenido de taninos fue 1,77 LCH<sub>4</sub>/kgMS menor en comparación con la media de las leguminosas con menor contenido de taninos, de acuerdo con la información contenida en el Cuadro 2.

En cuanto a la estimación de la concentración de CH<sub>4</sub> en la PGas no hubo diferencias en cuanto al hábito de crecimiento, aunque sí se detectaron diferencias en la media de concentración de metano en leguminosas con mayor contenido de taninos. Esta fue 2,8 puntos porcentuales menor en comparación con la media de las leguminosas con menor contenido de taninos (Cuadro 2). Además, se determinó que existe una correlación positiva y significativa ( $\rho=0,40$ ;  $p=0,02$ ) entre la concentración de CH<sub>4</sub> en la PGas y la dFDN.

Al igual que con la PGas, en el caso del CH<sub>4</sub>, la especie de leguminosa y la edad a la que se cosecha el forraje, son posibles factores que influyen sobre la concentración final de metano en el gas (Kamalak y Cambolat, 2010; Meale et al., 2012). De acuerdo con López-Herrera y Briceño-Arguedas (2016) el contenido de FDN en el forraje se incrementa conforme aumenta la edad de cosecha, aunque el aumento de edad reduce el contenido de dFDN en el forraje. Esto provocaría una reducción en la concentración de CH<sub>4</sub> de acuerdo con los hallazgos de este trabajo. Un incremento en la dFDN aumenta la cantidad de materia orgánica fermentándose en el rumen (Raffrenato y Erasmus, 2013), que en consecuencia aumentaría la producción de metano (Dijkstra et al., 2011). Este efecto explicaría por qué la producción de metano de *Arachis* es igual a la de *Cratylia* (13,2 LCH<sub>4</sub>/kgMS y 13,8 LCH<sub>4</sub>/kgMS, respectivamente), aunque poseen una concentración de taninos estimada igual desde el punto de vista estadístico (Cuadro 2). En la Figura 1 se puede apreciar la relación entre la producción de metano y los contenidos de taninos condensados.



**Figura 1.** Comparación entre la producción de metano y contenido de taninos condensados por especie de leguminosa, San José, Costa Rica.

La concentración de taninos en el forraje es un factor que tiene estrecha relación con el hábito de crecimiento y la especie de leguminosa (Castro-Montoya y Dickhoefer, 2020). Esto se puede corroborar al analizar la información contenida en la Figura 2. El uso de plantas con altos contenidos de taninos para reducir la producción de CH<sub>4</sub> ha sido documentada en las investigaciones de Grainger et al. (2009) y Archimède et al. (2016), estudios que coinciden con los resultados obtenidos en este trabajo.

En cuanto al efecto de la fuente de carbohidratos en la interacción, la magnitud del mismo depende del tipo de carbohidrato que esté participando en el proceso de fermentación. De este modo, es esperable que el maíz tenga un mayor impacto en la reducción de la producción de metano por ser fuente de almidón, lo que coincide con los estudios de Duncan (2014) y Lascano y Cardenas (2010), ya que se estimula la formación de propionato en el rumen. Este compite por la utilización de iones H<sup>+</sup> con los organismos metanogénicos, de manera que se reduce la producción de metano. Sin embargo, al utilizar GC se obtuvo un incremento en las medias de los tratamientos, a



pesar de ser una fuente rica en almidón (Rojas-Cordero et al., 2021), lo que sugiere que otros factores en el GC que deben ser investigados; como la concentración de almidón resistente, el efecto de los taninos en el fruto o el contenido de lignina.

### CONSIDERACIONES FINALES

Tanto la especie como la fuente de carbohidratos generan diferencias en la cantidad y calidad de la fibra de los ensilados de leguminosas. Las mezclas ensiladas de leguminosas arbustivas mostraron una menor calidad de fibra en comparación con las leguminosas herbáceas. El maíz genera mejoras en la calidad de la fibra, mientras que el GC reduce la calidad de la fibra, esto debido al contenido de lignina en el fruto. La producción de gas y concentración de metano fue afectada por la especie y la fuente de carbohidratos, su variación depende de la cantidad de fibra y calidad de esta en los ensilados, además del contenido de taninos presentes en el forraje. Es así como los ensilados *Arachis*-Mz y *Erythrina*-Mz fueron los de menor producción y concentración de metano. Se requiere de mayor investigación en cuanto a la determinación de taninos en forrajes y en los contenidos de otros componentes secundarios en los frutos de GC.

### AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Centro de Investigación en Nutrición Animal y a todo el personal por su colaboración para el desarrollo de esta investigación.

### LITERATURA CITADA

- Abdalla, A. L., Louvandini, H., Sallam, S. M. A. H., da Silva Bueno, I. C., Tsai, S. M. y de Oliveira Figueira, A. V. 2012. In vitro evaluation, in vivo quantification, and microbial diversity studies of nutritional strategies for reducing enteric methane production. *Trop. Anim. Health. Prod.* 44(5): 953-964.
- Aboul-Enein, A. M., Salama, Z. A., Gaafar, A. A., Aly, H. F., Abou-Elella, F. y Ahmed, H. A. 2016. Identification of phenolic compounds from banana peel (*Musa paradaisica* L.) as antioxidant and antimicrobial agents. *J. Chem. Pharm. Res.* 8(4): 46-55.

- Alayón-Gamboa, J. A., Jiménez-Ferrer, G., Piñeiro-Vázquez, Á. T., Canul-Solís, J., Albores-Moreno, S., Villanueva-López, G. y Ku-Vera, J. C. 2018. Estrategias de mitigación de gases de efecto invernadero en la ganadería. *Agroproductividad*. 11(2):
- Archimède, H., Eugène, M., Magdeleine, C. M., Boval, M., Martin, C., Morgavi, D. P., Lecomte, P. y Doreau, M. 2011. Comparison of methane production between C3 and C4 grasses and legumes. *Anim. Feed Sci.Tech.* 166: 59-64.
- Archimède, H., Rira, M., Barde, D. J., Labirin, F., Marie-Magdeleine, C., Calif, B., Periacarpin, F., Fleury, J., Rochette, Y., Morgavi, P. y Doreau, M. 2016. Potential of tannin-rich plants, *Leucaena leucocephala*, *Glyricidia sepium* and *Manihot esculenta*, to reduce enteric methane emissions in sheep. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 100(6): 1149-1158.
- Baloyi, J. J., Ngongoni, N. T., Topps, J. H., Acamovic, T. y Hamudikuwanda, H. 2001. Condensed tannin and saponin content of *Vigna unguiculata* (L.) Walp, *Desmodium uncinatum*, *Stylosanthes guianensis* and *Stylosanthes scabra* grown in Zimbabwe. *Trop. Anim. Health. Prod.* 33(1): 57-66.
- Bello-Lara, J. E., Balois-Morales, R., Sumaya-Martínez, M. T., Juárez-López, P., Rodríguez-Hernández, A. I., Sánchez-Herrera, L. M. y Jiménez-Ruiz, E. I. 2014. Extracción y caracterización reológica de almidón y pectina en frutos de plátano 'Pera' (Musa ABB). *Rev Mex Cienc Agr.* 5(SPE8): 1501-1507.
- Bernal, L. C., Avila, P., Ramírez, G., Lascano, C., Tiemann, T. y Hess, H. 2008. Effect of *Calliandra calothyrsus*, *Flemingia macrophylla*, *Cratylia argentea* and *Vigna unguiculata* silage and hay on in vitro gas production. *Archiv. Latin. Prod. Anim.* 16(3): 97-103.
- Bernal, L., Ávila, P., Ramírez, G. y Lascano, C. 2008. Efecto de la Suplementación con heno de *Calliandra calothyrsus* y *Vigna unguiculata* sobre la producción de leche en bovinos en Colombia. *Archiv. Latin. Prod. Anim.* 16(3): 104-109.
- Bonilla, J. D., Noboa-Jiménez L., Portuguez-Molina, V., Quinto-Ureña, F. y Rojas-Gutiérrez, J. J. 2020. Metanogénesis microbiana en animales poligástricos. *Nutr. Anim. Trop.* 14(1): 36-49.

- Bouchard, K. 2011. Methane emissions and rumen microbial changes in steers fed condensed tannin containing diets under western Canadian conditions. Tesis PhD. Universidad de Manitoba, Winnipeg, Canadá.
- Buddle, B. M., Denis, M., Attwood, G. T., Altermann, E., Janssen, P. H., Ronimus, R. S., Pinares-Patiño, C. S., Muetzel S. y Wedlock, D. N. 2011. Strategies to reduce methane emissions from farmed ruminants grazing on pasture. *Vet J.* 188(1): 11-17.
- Castro-Montoya, J. M. y Dickhoefer, U. 2020. The nutritional value of tropical legume forages fed to ruminants as affected by their growth habit and fed form: A systematic review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 269: 114641.
- Chaikong, C., Saenthaweesuk, N., Sadtagid, D., Intapim, A. y Khotakham, O. 2017. Local silage additive supplementation on fermentation efficiency and chemical components of leucaena silage. *Livest. Res. Rur. Dev.* 29(6): 114.
- Combs, D. 2014. Using in vitro total-tract NDF digestibility in forage evaluation. *Focus on Forage.* 15(2): 1-3.
- Delgado, D. C., Galindo, J., González, R., Savón, L., Scull, I., González, N. y Marrero, Y. 2010. Potential of tropical plants to exert defaunating effects on the rumen and to reduce methane production, In: Odongo N. E., Garcia M, y Viljoen G. J, Sustainable Improvement of Animal Production and Health, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 49-54
- Detmann, E., Valadares Filho, S. C., Pina, D. S., Henriques, L. T., Paulino, M. F., Magalhães, K. A., ... y Chizzotti, M. L. 2008. Prediction of the energy value of cattle diets based on the chemical composition of the feeds under tropical conditions. *Anim. Feed Sci. Technol.* 143(1-4): 127-147.
- Dijkstra, J., Oenema, O., y Bannink, A. (2011). Dietary strategies to reducing N excretion from cattle: implications for methane emissions. *Curr Opin Environ Sustain.* 3(5), 414-422
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., y Robledo C.W. InfoStat versión 2019. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- Dos Santos, N. D. F. A. (2007). Valor nutritivo de *Cratylia argentea* para suplementação de ruminantes na Amazônia. Tesis MSc. Universidade Federal do Pará, Brasil.

- Dufour, D., Gibert, O., Giraldo, A., Sanchez, T., Reynes, M., Pain, J. P., González, A., Fernández, A. y Díaz, A. (2009). Differentiation between cooking bananas and dessert bananas, 2, Thermal and functional characterization of cultivated Colombian Musaceae (Musa sp.). *J. Agr. Food Chem.* 57(17): 7870-7876.
- Duncan, A. V. M. 2014. Reduction of Enteric Methane Production: A Nutritional Approach. Tesis Ph.D. Universidad de Carolina del Norte A&T. Greensboro, Estados Unidos.
- Franzel, S., Carsan, S., Lukuyu, B., Sinja, J. y Wambugu, C. 2014. Fodder trees for improving livestock productivity and smallholder livelihoods in Africa. *Curr. Opin. Env. Sust.* 6: 98-103.
- Goel, G. y Makkar, H. P. 2012. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. *Trop. Anim. Health. Prod.* 44(4): 729-739.
- Grainger, C. y Beauchemin, K. A. 2011. Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166: 308-320.
- Grainger, C., Clarke, T., Auldist, M. J., Beauchemin, K. A., McGinn, S. M., Waghorn, G. C. y Eckard, R. J. 2009. Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.* 89(2): 241-251.
- Happi-Emaga, T., Robert, C., Ronkart, S. N., Wathelet, B. y Paquot, M. 2008. Dietary fibre components and pectin chemical features of peels during ripening in banana and plantain varieties. *Bioresour. Technol.* 99(10): 4346-4354.
- Hassanat, F., Gervais, R., Massé, D. I., Petit, H. V. y Benchaar, C. 2014. Methane production, nutrient digestion, ruminal fermentation, N balance, and milk production of cows fed timothy silage-or alfalfa silage-based diets. *J. Dairy Sci.* 97(10): 6463-6474.
- Heinritz, S. N., Martens, S. D., Avila, P. y Hoedtke, S. 2012. The effect of inoculant and sucrose addition on the silage quality of tropical forage legumes with varying ensilability. *Anim. Feed Sci. Technol.* 174(3-4): 201-210.

- Hindrichsen, I. K., Wettstein, H. R., Machmüller, A., Jörg, B. y Kreuzer, M. 2005. Effect of the carbohydrate composition of feed concentrates on methane emission from dairy cows and their slurry. *Environ. Monit. Assess.* 107(1): 329-350.
- Hindrichsen, I. K., Wettstein, H. R., Machmüller, A., Soliva, C. R., Bach Knudsen, K. E., Madsen, J. y Kreuzer, M. 2004. Effects of feed carbohydrates with contrasting properties on rumen fermentation and methane release in vitro. *Can. J. Anim. Sci.* 84(2): 265-276.
- Hiriart, M. 2008. *Ensilados, Procesamiento y Calidad*, Editorial Trillas. 2da Ed. México.
- Jackson, F. S., Barry, T. N., Lascano, C. y Palmer, B. 1996. The extractable and bound condensed tannin content of leaves from tropical tree, shrub and forage legumes. *J. Sci. Food Agri.* 71(1): 103-110.
- Jiao, H. P., Yan, T., McDowell, D. A., Carson, A. F., Ferris, C. P., Easson, D. L. y Wills, D. 2013. Enteric methane emissions and efficiency of use of energy in Holstein heifers and steers at age of six months. *J. Anim. Sci.* 91(1): 356-362.
- Kamalak, A. y Canbolat, O. 2010. Determination of nutritive value of wild narrow-leaved clover (*Trifolium angustifolium*) hay harvested at three maturity stages using chemical composition and in vitro gas production. *Trop. Grassl.* 44(2): 128-133.
- Kexian, Y., Lascano, C. E., Kerridge, P. C. y Avila Vargas, P. 1998. The effect of three tropical shrub legumes on intake rate and acceptability by small ruminants. *Trop. Grassl.* 20(3): 31-35.
- Khamseekhiew, B., Liang, J. B., Wong, C. C. y Jalan, Z. A. 2001. Ruminal and intestinal digestibility of some tropical legume forages. *Asian. Australas. J. Anim. Sci.* 14(3): 321-325.
- Kongmanila, D. y Ledin, I. 2009. Chemical composition of some tropical foliage species and their intake and digestibility by goats. *Asian. Australas. J. Anim. Sci.* 22(6): 803-811.
- Kongmanila, D., Bertilsson, J., Ledin, I. y Wredle, E. 2012. Utilisation of some *Erythrina* species and biomass production of *Erythrina variegata*. *Livest. Res. Rural. Dev.* 24(8):1-8.

- Kongmanila, D., Preston, T. R, y Ledin, I. 2007. Chemical composition, digestibility and intake of some tropical foliage species used for goats. Tesis de M.Sc. MEKARN-Swedish University of Agricultural Sciences, Vietnam.
- Krizsan, S. J. y Huhtanen, P. 2013. Effect of diet composition and incubation time on feed indigestible neutral detergent fiber concentration in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96(3): 1715-1726.
- Lascano, C. E. y Cárdenas, E. 2010. Alternatives for methane emission mitigation in livestock systems. *Rev. Bras. de Zootec.* 39: 175-182.
- Lascano, C. E. 1994. Nutritive value and animal production of forage *Arachis*, In: Kerridge, P. C. y Hardy, B. *Biology and agronomy of forage Arachis*. Centro Internacional de Agricultura Tropical: Cali, Colombia 109-121.
- Lopez, J., Tejada, I., Vásquez, C., Garza, J. D. D. y Shimada, A. 2004. Condensed tannins in humid tropical fodder crops and their in vitro biological activity: Part 1. *J. Sci. Food Agri.* 84(4): 291-294.
- López-Herrera, M. y Briceño-Arguedas, E. 2016. Efecto de la frecuencia de corte y la precipitación en el rendimiento de *Cratylia argentea* orgánica. *Nutr. Anim. Trop.* 10(1): 24-44.
- López-Herrera, M. 2019. Informe final del proyecto 739-B7-069 "Degradabilidad *in vitro* del almidón en diferentes subproductos agrícolas e impacto sobre la producción de metano y parámetros de fermentación ruminal". Universidad de Costa Rica. Costa Rica 11p.
- López-Herrera, M., Rojas-Bourrillon, A. y Castillo-Umaña, M. 2019. Efecto de la sustitución de King grass (*Cenchrus purpureus*) por yuca (*Manihot esculenta crantz*) sobre la calidad nutricional del ensilaje. *Nutr. Anim. Trop.* 13(2): 21-42.
- López-Herrera, M., Rojas-Bourrillon, A. y Zumbado Ramírez, C. 2017. Características nutricionales y fermentativas de ensilados de pasto Camerún con plátano Pelipita1. *Agron. Mesoam.* 28(3): 629-642.
- Meale, S. J., Chaves, A.V., Baah, J. y McAllister, T. A. 2012. Methane production of different forages in in vitro ruminal fermentation. *Asian. Australas. J. Anim. Sci.* 25(1): 86 – 91.

- Mohapatra, D., Mishra, S. y Sutar, N. 2010. Banana and its by-product utilization: an overview. *J.Sci. Ind. Res.* 69(5): 323 – 329.
- Olivo, P, M., Santos, G. T. D., Ítavo, L. C. V., Silva Junior, R. C. D., Leal, E. S. y Prado, R. M. D. 2017. Assessing the nutritional value of agroindustrial co-products and feed through chemical composition, in vitro digestibility, and gas production technique. *Acta Sci. Anim. Sci.* 39(3): 289-295.
- Pellikaan, W. F., Stringano, E., Leenaars, J., Bongers, D. J., van Laar-van Schuppen, S., Plant, J. y Mueller-Harvey, I. 2011. Evaluating effects of tannins on extent and rate of in vitro gas and CH<sub>4</sub> production using an automated pressure evaluation system (APES). *Anim. Feed Sci. Technol.* 166: 377-390.
- Pineda Cordero, L., Chacón Hernández, P. y Boschini Figueroa, C. 2016. Evaluación de la calidad del ensilado de pasto estrella africana (*Cynodon nlemfluensis*) mezclado con tres diferentes aditivos. *Agron. Costarr.* 40(1): 11-27.
- Pootaeng-on, Y., Kimsri, N., Sooksom, S., Tangchaitam, S. y Chiangmai, P. N. 2015. Condensed tannins in some tropical legumes residue, *Sci. Eng. Health Stud.* 9(1):51-60.
- Poppi, D. P., Quigley, S. P., Silva, T. A., C, C. D. y McLennan, S. R. 2018. Challenges of beef cattle production from tropical pastures. *Rev. Bras. Zootec.* 47: e20160419
- Pugalenth, M., Vadivel, V., Gurumoorthi, P. y Janardhanan, K. 2004. Comparative nutritional evaluation of little known legumes, *Tamarindus indica*, *Erythrina indica* and *Sesbania bispinosa*. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 4(3): 107-123.
- Raffrenato, E. y Erasmus, L. J. 2013. Variability of indigestible NDF in C3 and C4 forages and implications on the resulting feed energy values and potential microbial protein synthesis in dairy cattle. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 43(5): S98-S102.
- Ravi, I., y Mustaffa, M. M. 2013. Starch and amylose variability in banana cultivars. *Indian J. Plant Physiol.* 18(1): 83-87.
- Rojas-Cordero, D., Alpízar-Naranjo, A., Castillo-Umaña, M, Á. y López-Herrera, M. 2021. Efecto de la inclusión de Musa sp, sobre la conservación como ensilaje de *Trichantera gigantea*. *Pastos y Forrajes*, 44(1).
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S. y Kulkarni, P. R. 2006. Resistant starch—a review. *Compr. Rev. Food. Sci.* 5(1): 1-17.

- Santos, G. T., Lima, L. S., Schogor, A. L. B., Romero, J. V., De Marchi, F. E., Grande, P. A. y Kazama, R. 2014. Citrus pulp as a dietary source of antioxidants for lactating Holstein cows fed highly polyunsaturated fatty acid diets. *Asian. Australas. J. Anim. Sci.* 27(8): 1104.
- Sobalvarro-Mena, J. L., Elizondo-Salazar, J. A., y Rojas-Bourillón, A. 2020. La producción de gas in vitro para estimar la energía neta de lactancia. *Agron. Mesoam.* 31(2): 311-328.
- Sousa, D.O. 2017. Alteration of fiber digestibility for ruminants: effects on intake, performance, and ruminal ecosystem. Tesis Ph.D. Universidad de São Paulo. Brasil.
- Stürm, C. D., Tiemann, T. T., Lascano, C. E., Kreuzer, M. y Hess, H. D. 2007. Nutrient composition and in vitro ruminal fermentation of tropical legume mixtures with contrasting tannin contents. *Anim. Feed Sci. Technol.* 138(1): 29-46.
- Tiemann, T. T., Lascano, C. E., Wettstein, H. R., Mayer, A. C., Kreuzer, M. y Hess, H. D. 2008. Effect of the tropical tannin-rich shrub legumes *Calliandra calothyrsus* and *Flemingia macrophylla* on methane emission and nitrogen and energy balance in growing lambs. *Animal.* 2(5): 790-799.
- Van Soest, P. V., Robertson, J. B, y Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74(10): 3583-3597.