

Estimación del valor nutricional de pastos tropicales a partir de análisis convencionales y de la producción de gas *in vitro*

Assessment of the nutritional value of tropical grasses obtained from conventional analyses and *in vitro* gas production

Arturo Saúl Juárez Reyes^a, María Andrea Cerrillo Soto^a, Erasmo Gutiérrez Ornelas^b, Elvia Margarita Romero Treviño^c, Javier Colín Negrete^b, Hugo Bernal Barragán^b

RESUMEN

Muestras de los pastos *Panicum maximum* (Guinea), *Digitaria decumbens* (Pangola), *Cynodon dactylon* (Bermuda) y *Panicum maximum* var *Tanzania* (Tanzania), del noreste de México (Norte del Estado de Veracruz), se colectaron por triplicado al inicio de la floración y se analizaron mediante procedimientos químicos convencionales y la técnica de producción de gas *in vitro*. Los datos se analizaron mediante ANOVA para un diseño completamente al azar. A diferencia de los otros forrajes, en el pasto Pangola se observó el mayor ($P < 0.05$) contenido en materia orgánica (91 %), proteína cruda (7.6 %), fibra detergente neutra (65 %), producción acumulada de gas *in vitro* (76 ml 500 mg⁻¹ DM), producción de gas a partir de la fracción *b* (149 ml) y producción potencial de gas ($a + b = 143$ ml). La mayor concentración (mM L⁻¹) de acetato (16.0), propionato (4.20), butirato (2.18) y ácidos grasos volátiles totales (23.2) que el pasto pangola produjo, son indicadores adicionales de una mayor disponibilidad de energía en el Pangola, comparado con los otros pastos. La mayor ($P < 0.05$) degradabilidad ruminal aparente de la MS (38 %), producción de biomasa microbiana (1.0 mg RNA/100 mg de MS aparentemente degradada) y contenido de EM (1.6 Mcal ME kg⁻¹) también se registraron en el pasto Pangola. El análisis químico convencional (Weende+ Van Soest) de los pastos estudiados, complementado con la determinación de producción de gas *in vitro*, permitió obtener información específica sobre el proceso digestivo en el rumen, la producción de proteína microbiana y el contenido en energía metabolizable de los forrajes estudiados.

PALABRAS CLAVE: Pastos tropicales, Análisis químicos, Producción de gas *in vitro*, Parámetros de fermentación, Energía metabolizable.

ABSTRACT

Samples of grasses, *Panicum maximum* (Guinea), *Digitaria decumbens* (Pangola), *Cynodon dactylon* (Bermuda), and *Panicum maximum* var *Tanzania* (Tanzania) from Northeastern Mexico (Veracruz State) were harvested in triplicate at the beginning of the flowering stage and analyzed through both conventional laboratory and *in vitro* gas production procedures. Data were analyzed through ANOVA for a completely randomized design. Pangola grass recorded the highest ($P < 0.05$) OM (91 %) and CP (7.6%) content and the lowest NDF values (65 % DM). Moreover, Pangola also recorded the highest ($P < 0.05$) cumulative *in vitro* gas production (76 ml 500 mg⁻¹ DM), gas produced from fraction *b* (149 ml), and potential gas production ($a + b = 143$ ml). The greater concentrations (mM L⁻¹) for acetic (16.0), propionic (4.20), butyric (2.18) acids and total VFA (23.2), together with a lower A:P ratio (3.8) may indicate a greater energy availability in Pangola. Higher ($P < 0.05$) apparent ruminal DM degradability (38 %), microbial biomass production (1.0 mg RNA/100 mg⁻¹ of DM apparently degraded) and ME content (1.6 Mcal ME kg⁻¹) were also observed in Pangola. Conventional chemical analyses (Weende + Van Soest) added to the *in vitro* gas production technique allowed obtaining specific information on digestive processes in rumen and a better knowledge of nutritional properties such as microbial protein production and metabolizable energy content, of the forages being studied.

KEY WORDS: Tropical grasses, Chemical analyses, *in vitro* gas production, Fermentation parameters, Metabolizable energy.

Recibido el 7 de abril de 2008. Aceptado para su publicación el 20 de junio de 2008.

^a Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Juárez del Estado de Durango. Constitución 404 sur. Colonia Centro. 34000. Durango, Dgo. Tel. 01-618-8-18-99-32. ajuarez52@yahoo.com.mx. Correspondencia al primer autor.

^b Facultad de Agronomía. Universidad Autónoma de Nuevo León. México.

^c Instituto Tecnológico de Altamira, Tamaulipas. México.

En el noreste de México, pastos tropicales introducidos como Guinea (*Panicum maximum*), Pangola (*Digitaria decumbens*), Bermuda (*Cynodon dactylon*) y Tanzania (*P. maximum* var *Tanzania*) elevan la producción de forraje y la carga animal durante la primavera y el otoño. Estos forrajes constituyen una fuente importante de alimento para el ganado explotado en ranchos de doble propósito en el trópico seco de México⁽¹⁾, sin embargo, se necesita más información nutricional sobre estos pastos para mejorar su utilización.

La información actual sobre el valor nutritivo de pastos y forrajes se basa en su contenido de proteína, fibra, grasa y ceniza, la cual se obtiene mediante el análisis tradicional de Weende, su digestibilidad y su contenido de componentes estructurales^(2,3,4). Actualmente, se enfatiza el uso de métodos *in vitro* para la evaluación de alimentos⁽⁵⁾. Desde que se propuso⁽⁶⁾, la técnica de producción de gas se ha utilizado para describir la cinética de fermentación y el valor nutritivo de forrajes⁽⁷⁾ principalmente de pajas⁽⁸⁾, granos de cereales⁽⁹⁾, arbustivas⁽¹⁰⁾ y residuos agro-industriales⁽¹¹⁾. Para ampliar la información sobre las propiedades nutricionales de los alimentos, es necesario estimar, además, otros productos de fermentación, tales como perfiles de ácidos grasos volátiles y proteína microbiana⁽¹²⁾. La estimación de estas variables en muestras de forrajes tropicales a partir de sus características de producción de gas *in vitro*, permitiría complementar y hacer más precisa la información nutricional que la que se obtiene, solamente, a partir de análisis convencionales. El objetivo del estudio fue caracterizar, exhaustivamente, el valor nutricional de cuatro pastos tropicales introducidos y utilizados en sistemas de producción de ganado de doble propósito en pastoreo extensivo en el noreste de México mediante procedimientos convencionales (Weende+ Van Soest), complementados con la determinación *in vitro* de sus características fermentativas.

Muestras de *Panicum maximum* (Guinea), *Digitaria decumbens* (Pangola), *Cynodon dactylon* (Bermuda) y *P. maximum* var *Tanzania* (Tanzania) se colectaron en el rancho Topila, localizado al noreste del estado de Veracruz, en el que se tiene un

In Northeastern Mexico, introduced tropical grasses, such as *Panicum maximum* (Guinea), *Digitaria decumbens* (Pangola), *Cynodon dactylon* (Bermuda), and *Panicum maximum* var *Tanzania* (Tanzania) increase forage production, thus, allowing a greater stocking rate during spring and autumn. These forages constitute an important source for feeding animals in dual purpose ranches in the Subtropics of Mexico⁽¹⁾, however, more information on their nutritional value is needed to make better use of them.

Available data on nutritive value of grasses and other forages are based on their protein, fat, fiber and ash content, which is obtained by means of the conventional Weende procedure and by assessing their digestibility and structural component content^(2,3,4). Currently, the use of *in vitro* methods to evaluate feeds is emphasized⁽⁵⁾. Since first proposed, the gas production technique has been used to describe fermentation kinetics and nutritive value of forages, especially roughage⁽⁸⁾, cereal grains⁽⁹⁾, shrubs⁽¹⁰⁾ and agro-industrial waste⁽¹¹⁾. To increase data on feed nutritive value, evaluation of other fermentation products, such as volatile fatty acids (VFA) and microbial protein⁽¹²⁾ profiles is needed. Assessment of these variables in samples of tropical grasses through *in vitro* gas production methods should allow complementing and making more precise the nutritional data obtained from conventional analyses. The objective of the present study was to further characterize, the nutritive value of four introduced tropical grasses used in extensive grazing dual purpose cattle production in Northeastern Mexico through both conventional laboratory procedures (Weende + Van Soest) and *in vitro* gas production methods.

Samples of *Panicum maximum* (Guinea), *Digitaria decumbens* (Pangola), *Cynodon dactylon* (Bermuda), and *Panicum maximum* var *Tanzania* (Tanzania) were collected on November 2004 in three paddocks at the beginning of the flowering stage at a 10 to 20 cm height⁽¹⁴⁾ at the Topila ranch, located in the northeast of the State of Veracruz, Mexico, which has a dual purpose cattle system. Average annual rainfall in this location is 839 mm and average annual temperature 24°C⁽¹³⁾.

sistema de producción de ganado de doble propósito. Su temperatura media es de 24 °C y su precipitación media anual de 839 mm⁽¹³⁾. En noviembre de 2004, se colectaron tres muestras de cada especie de pasto al inicio de la floración de tres diferentes potreros a una altura de corte de 10 a 20 cm⁽¹⁴⁾.

Las muestras se secaron en estufa de aire forzado (48 h; 55 °C) y se molieron en molino Willey con malla de 1 mm. Se realizaron determinaciones de materia seca (MS), materia orgánica (MO) y proteína cruda (PC)⁽¹⁵⁾, además de su contenido en fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA)⁽²⁾.

Aproximadamente 500 mg (DM) de muestra se colocaron, por triplicado, en jeringas de vidrio calibradas de 100 ml por triplicado. Soluciones amortiguadoras y minerales⁽⁶⁾ se mezclaron con líquido ruminal en una proporción de 2:1 con líquido ruminal colectado de tres ovinos fistulados de rumen, alimentados con heno de alfalfa y concentrado comercial (75:25). Cuarenta (40) ml de esta mezcla de solución amortiguadora con líquido ruminal se incorporaron en cada jeringa para iniciar la incubación. Se utilizó como estándar, heno de alfalfa de conocida producción de gas. Las jeringas se agitaron suavemente al realizar cada lectura y se registró el volumen de gas a las 0, 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 y 96 h de incubación. Los datos obtenidos se ajustaron a una ecuación exponencial⁽¹⁶⁾: $p = a + b(1 - e^{-ct})$ donde p representa el gas producido al tiempo t ; a = el intercepto; b = gas producido por la fracción insoluble pero lentamente fermentable del alimento; $a + b$ la producción potencial de gas y c = la tasa constante de producción de gas. Las determinaciones *in vitro* de AGV, degradación aparente del substrato y biomasa microbiana se realizaron en diferentes grupos de jeringas.

Para determinar la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) *in vitro*, se incubaron muestras de los forrajes, por triplicado, como ya se describió, durante 24 h. Después del periodo de incubación, las jeringas se colocaron en hielo. Posteriormente, se colectaron 10 ml del contenido de cada jeringa y se centrifugaron a 1000 ×g durante 20 min.

Samples were dried in a forced air stove (48 h; 55 °C) and ground in a Willey grinder through a 1 mm sieve. Dry matter (DM), organic matter (OM) and crude protein (CP)⁽¹⁵⁾ were determined as well as neutral detergent (NDF) and acid detergent fiber (ADF) contents⁽²⁾.

Approximately 500 mg of each sample were placed in triplicate in 100 ml calibrated glass syringes. Buffer and mineral solutions were added in a 2:1 ratio to rumen liquid collected from three fistulated sheep which were fed with alfalfa hay and a commercial concentrate (75:25). Forty (40) milliliters of this mixture were introduced in each syringe for incubation. Alfalfa hay whose gas production was known was used as control. Syringes were shaken gently at each reading and the gas volume was recorded at 0, 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 and 96 h of incubation. Data obtained were adjusted through the following exponential equation⁽¹⁶⁾: $p = a + b(1 - e^{-ct})$, where p is the amount of gas produced in time t ; a is the intercept; b the gas produced by the insoluble but slowly fermenting fraction of the feed; $a + b$ the gas production potential and c is the constant gas production rate. *In vitro* VFA production, substrate apparent degradation and microbial biomass production were determined in a different set of syringes each.

To determine *in vitro* VFA production, forage samples were incubated as described above, in triplicate for 24 h. Following the incubation period, syringes were placed in ice. Afterwards, 10 ml of the contents of each syringe were collected and centrifuged for 20 min at 1000 ×g. Five ml of the supernatant were placed in 10 ml plastic tubes which contained 1 ml of metaphosphoric acid at 25 % (W/V) and centrifuged at 1000 ×g for 20 min and later VFA⁽¹⁷⁾ were determined in a Perkin Elmer (AutoSystem XL) gas chromatograph, provided with a 30 cm long, 0.25 mm diameter PE-WAX column.

Apparent degradation of grasses was determined *in vitro* after 24 h incubation of the samples in glass syringes. This time has been considered as the period for maximum efficiency of ruminal microbial production in forages⁽¹²⁾. After incubation, the

Cinco (5) ml del sobrenadante se colocaron en tubos de plástico de 10 ml que contenían 1 ml de ácido metafosfórico al 25 % (P/V) y se centrifugaron a 1000 xg durante 20 min para posteriormente determinar la concentración de AGV⁽¹⁷⁾ utilizando un cromatógrafo de gases Perkin Elmer (AutoSystem XL), con columna PE-WAX (30 m de largo, 0.25 mm de diámetro).

La degradación aparente de los pastos se determinó *in vitro* después de haber incubado las muestras durante 24 h en jeringas de vidrio, ya que es el tiempo al cual la eficiencia en la producción microbiana ruminal es máxima para forrajes⁽¹²⁾. Después de la incubación, el contenido de las jeringas se transfirió a bolsas nylon lavadas y taradas (5 x 10 cm, con poro de 40-60 μm ; Ankom Technology®). La degradación aparente del substrato *in vitro* se estimó mediante la diferencia entre el peso inicial y final después de secar las muestras a 60 °C⁽¹⁸⁾.

Los residuos de las muestras incubadas durante 24 h se colocaron en tubos y se centrifugaron a 20,000 xg por 30 min. Se desechó el sobrenadante y el residuo se lavó dos veces con agua destilada y se centrifugó de nuevo. El residuo se liofilizó y una sub muestra representativa (75 mg) se utilizó para la determinación de purinas^(19,20).

La energía bruta (EB) de los pastos se determinó usando una bomba adiabática calorimétrica (Parr®, Mod. 1241; con bomba de oxígeno mod. 1108). La energía metabolizable (EM) se estimó partir de la producción de gas *in vitro*, incubando 200 mg de muestra con líquido ruminal, y calculando los valores correspondientes de acuerdo a la ecuación⁽⁶⁾: $EM \text{ (Mcal kg}^{-1} \text{ MS)} = (2.20 + 0.136 \text{ producción de gas}_{24\text{h}} + 0.057 \text{ proteína cruda} + 0.0029 \text{ extracto etereo}^2)/4.184$. La energía digestible (ED) se calculó en función de su contenido de EM con la ecuación⁽²¹⁾: $ED \text{ (Mcal kg}^{-1} \text{ MS)} = (EM + 0.45)/1.01$.

Los datos se sometieron a análisis de varianza para un diseño completamente al azar usando el comando PROC GLM de SAS⁽²²⁾, y las medias se compararon con la prueba de Tukey. Se realizó un

contents of the syringes were transferred to washed and weighted nylon bags (5*10 cm, with 40 to 60 μm ; Ankom Technology®). The *in vitro* apparent degradation of the substrate was estimated through the difference between the final weight after drying at 60 °C and the initial weight⁽¹⁸⁾.

Incubation sample residues were placed in tubes and centrifuged at 20,000 xg for 30 min. The supernatant was discarded and the residue was washed twice with distilled water and centrifuged again. The residue was lyophilized and a representative subsample (75 mg) was used to determine purines^(19,20).

Gross energy (GE) in grasses was determined by means of an adiabatic oxygen bomb calorimeter (Parr®, Mod. 1241 with oxygen pump mod. 1108). Metabolizable energy (ME) was calculated from *in vitro* gas production, incubating 200 mg of grass sample and estimating the corresponding values in accordance with the following equation⁽⁶⁾: $ME \text{ (Mcal kg}^{-1} \text{ DM)} = 2.20 + 0.136 \text{ Gas production}_{24\text{h}} + 0.057 \text{ CP} + 0.0029 \text{ ether extract}^2 / 4.184$. Digestible energy (DE) was calculated taking into account ME contents in accordance with the following equation⁽²¹⁾: $DE \text{ (Mcal kg}^{-1} \text{ DM)} = (ME + 0.45) / 1.01$.

Data were analyzed using a variance test according to a completely randomized design by means of the PROC GLM command in the SAS software⁽²²⁾, and the means were compared through Tukey's test. A correlation analysis was carried out between the VFA concentration and *in vitro* gas production through the PROC REG command of the SAS software⁽²²⁾.

Samples were collected at the beginning of flowering, a stage previous to grazing by dual purpose cattle. In Table 1 is shown that ash content in Tanzania grass is greater than in Bermuda grass ($P < 0.05$), in consequence OM content was lower in Tanzania and greater in Bermuda ($P < 0.05$). Values found for ash are within the range reported for tropical grasses⁽⁴⁾. The high ash content in tropical grasses can be related to a reduced OM fermentation in rumen, especially when silica

análisis de correlación entre la concentración de los AGVs y la producción de gas *in vitro* usando el comando PROC REG de SAS⁽²²⁾.

Las muestras se colectaron al inicio de la floración, etapa previa al pastoreo por bovinos de doble propósito. El Cuadro 1 muestra que el contenido de cenizas del pasto Tanzania fue mayor ($P < 0.05$) al registrado en el pasto Bermuda; como consecuencia, el contenido de MO fue menor para Tanzania y mayor ($P < 0.05$) para Bermuda. Los contenidos de cenizas obtenidos corresponden a los valores reportados en los pastos tropicales⁽⁴⁾. El alto contenido de cenizas en pastos tropicales se relaciona con una reducida fermentación de la MO en el rumen, especialmente cuando el contenido de sílica es alto, lo cual tiene un efecto negativo sobre el contenido de ED y EM en los forrajes, probablemente debido a que afecta la digestibilidad de la FDN⁽³⁾. El contenido de PC de los pastos Guinea, Bermuda y Pangola fue mayor ($P < 0.05$) al de Tanzania. Los valores de PC en Bermuda y Tanzania reportados para otras latitudes^(3,23) fueron mayores en 30 % mayores a los del presente estudio. La misma tendencia se aplica para el pasto Pangola al compararlo con los valores de PC⁽²⁴⁾. En el presente experimento el pasto Guinea tuvo un 35 % más de PC que el reportado en otros trabajos⁽⁴⁾. En general, el contenido de PC en las muestras de los pastos analizados fue similar o menor (Tanzania) a 8 %, valor considerado como el mínimo requerido para promover el crecimiento microbiano en el rumen⁽²⁵⁾, y el suministro de aminoácidos al animal⁽²⁶⁾. El bajo valor de PC encontrado en el presente estudio en el pasto Tanzania, es inadecuado para cubrir los requerimientos de proteína degradable de los rumiantes manejados en pastoreo⁽²¹⁾. El contenido en FDN fue similar en los pastos Bermuda y Tanzania ($P > 0.05$) y 15 % mayor en éstos que en Pangola ($P < 0.05$). Es conocida la relación inversa que existe entre el contenido de FDN y el valor nutritivo, consumo y digestibilidad de los pastos^(27,28,29).

De acuerdo con los resultados obtenidos del análisis químico tradicional, el pasto Pangola puede considerarse como el de mayor calidad debido a su

Cuadro 1. Composición química (% MS) de pastos tropicales usados en sistema de producción de ganado de doble propósito en el noreste de México

Table 1. Chemical composition (DM %) of tropical grasses used in dual purpose cattle production systems in Northeastern Mexico

Grass	Ash	Organic matter	Crude protein	Neutral detergent fiber
Guinea	11.5 ^{ab}	88.5 ^{ab}	8.09 ^a	72.7 ^{ab}
Bermuda	8.60 ^b	91.4 ^a	7.60 ^a	76.0 ^a
Pangola	9.23 ^{ab}	90.8 ^{ab}	7.60 ^a	65.6 ^b
Tanzania	15.0 ^a	85.0 ^b	4.64 ^b	74.6 ^a
Average	11.1	88.9	6.98	72.2
SEM	1.96	1.39	0.35	2.01

SEM = Standard error of the mean.

^{a,b} Means within columns with different superscript differ ($P < 0.05$).

content is high, which has a negative effect on DE and ME, probably due to the fact that NDF digestibility is affected⁽³⁾. Crude protein content in Guinea, Bermuda and Pangola grasses was greater than in Tanzania ($P < 0.05$). Crude protein values in Tanzania and Bermuda grasses reported in other latitudes^(3,23) were 30 % higher than those found in the present study. The same trend can be applied to Pangola grass when CP values are compared⁽²⁴⁾. In the present study, Guinea grass showed a 35 % higher content than in other studies⁽⁴⁾. In general, CP content was equal or less than 8 %, a value that can be considered a threshold for microbial growth in the rumen⁽²⁵⁾, and for providing amino acids to animals⁽²⁶⁾. The low CP value found in the present study in Tanzania grass is insufficient for covering the minimum requirements of degradable protein for grazing ruminants⁽²¹⁾. Neutral detergent fiber content was similar in Bermuda and Tanzania grasses ($P < 0.05$), 15 % higher than in Pangola ($P < 0.05$). The negative relationship between NDF and nutritional value, intake and digestibility in grasses is well known^(27,28,29).

In accordance with results obtained through traditional chemical analysis, Pangola grass could be considered as having higher quality due to its low NDF content. On the other hand, Tanzania

menor contenido de FDN. En contraste, el pasto Tanzania sería el de menor calidad debido a su alto contenido de ceniza y bajo nivel de PC. Sin embargo, esta información no permite hacer una caracterización de la calidad de los pastos en términos de su aprovechamiento energético y proteico a nivel ruminal, lo cual puede ser importante al momento de establecer un sistema de alimentación para rumiantes en el trópico.

La determinación de la producción de gas *in vitro* es importante para los nutricionistas porque proporciona información sobre la cinética de la fermentación de los alimentos consumidos por los rumiantes, la cual depende del tiempo de residencia del alimento en el rumen y de su tasa de degradación. Así, los alimentos con altas tasas de fermentación tienden a consumirse en mayor cantidad⁽⁵⁾.

La mayor ($P < 0.05$) producción de gas se registró en el pasto Pangola, mientras que la de los otros pastos fue aproximadamente 30 % menor (Cuadro 2). El volumen de gas producido en el forraje de referencia (alfalfa) fue de 93 ml, valor que superó en un 18 % a la producción de gas en Pangola, pero en más de 40 % a la del resto de los pastos. El promedio de gas producido en el presente estudio (58.1 ml/500 mg) fue similar al reportado (rango de 36.5 a 50.6 ml/500 mg) por otros autores⁽³⁰⁾.

La mayor ($P < 0.05$) producción de gas a partir de la fracción insoluble pero de lenta degradación (*b*), se registró también en el pasto Pangola, y los valores más bajos en los pastos Guinea y Bermuda. El alto valor de *b* encontrado en el pasto Pangola podría resultar en una mayor utilización de su contenido energético por parte de los rumiantes. El valor promedio encontrado en el presente estudio (121 mL 500 mg⁻¹ MS) fue mayor que los valores de 90 ml 500 mg⁻¹ MS reportados para muestras de diferentes componentes del rastrojo de maíz⁽³¹⁾. Por el contrario, también se han encontrado valores de *b* menores a 64 ml en hojas de árboles y arbustos tropicales⁽³²⁾. Lo anterior puede explicarse debido a las diferencias en la disponibilidad de los nutrientes para mantener la fermentación de los forrajes estudiados. Por ejemplo, muestras de paja

grass would be the lower quality forage due to its high ash content and low CP content. However, this information does not allow us to characterize grass quality in terms of protein and energy used at the ruminal level, which can be important when setting up a feeding system for ruminants in the tropics.

Determining *in vitro* gas production is of value to nutritionist because it provides information on fermentation kinetics of feed consumed by animals, which is dependent on the rate of passage and the degradation rate. Therefore, feed with high fermentation rates tend to be more consumed⁽⁵⁾.

The higher gas production ($P < 0.05$) was found in Pangola grass, while it was some 30 % less in the other grasses (Table 2). Gas produced in the control forage (alfalfa) was 93 ml, 18 % more than in Pangola, but 40 % more than for the other grasses. Average gas production in the present study (58.1 ml 500 DM mg⁻¹) was similar to those reported (36.5 – 50.6 ml 500 DM mg⁻¹) by other authors⁽³⁰⁾.

The greater ($P < 0.05$) gas production from the insoluble but slowly degradable *b* fraction was found

Cuadro 2. Producción de gas *in vitro* (ml 500 mg⁻¹ MS) de pastos tropicales usados en sistema de producción de ganado de doble propósito en el noreste de México

Table 2. *In vitro* (ml 500 mg⁻¹ DM) gas production in tropical grasses used in dual purpose cattle production systems in Northeastern Mexico

Grass	GP	b	c	a + b
Guinea	53.8 ^Y	109.2 ^Z	0.0425 ^X	102.9 ^Z
Bermuda	50.0 ^Y	102.3 ^Z	0.0401 ^{XY}	101.9 ^Z
Pangola	76.1 ^X	149.3 ^X	0.0329 ^Y	143.5 ^X
Tanzania	52.1 ^Y	137.6 ^Y	0.0329 ^Y	130.5 ^Y
Mean	58.1	121.6	0.0371	119.7
SEM	7.70	6.07	0.0053	5.78

GP= cumulative gas production after 24 h incubation (ml 500 mg⁻¹ DM); b= gas produced from the slowly degradable fraction of feed (mL 500mg⁻¹ DM); c= constant rate of gas production (h⁻¹); a+b= potential gas production (mL 500mg⁻¹ DM); SEM = Standard error of the mean.

^{XYZ} Means within columns with different superscript differ ($P < 0.05$).

sin ningún tratamiento químico producen menos gas *in vitro* que las muestras tratadas⁽³³⁾.

La mayor ($P < 0.05$) tasa de degradación c se registró en el pasto Guinea ($4.25 \% \text{ h}^{-1}$), mientras que en los pastos Pangola y Tanzania la tasa de digestión fue menor (Cuadro 2). Altas tasas de degradación c indicarían elevada disponibilidad de nutrientes para los microorganismos ruminales, mientras que los bajos valores de c pueden ser el resultado de mayores cantidades de FDN, cuyos componentes químicos pueden reducir la velocidad de fermentación de los sustratos⁽³⁴⁾. La FDN, pero principalmente la lignina de hojas de arbustos y árboles de las regiones semiáridas del noreste de México pueden ser responsables de la baja producción de gas *in vitro*⁽³⁵⁾. Resultados similares se han observado en muestras de pastos y ensilaje de maíz⁽³⁶⁾. El efecto negativo de la lignina se atribuye a la obstrucción física que hace de los carbohidratos estructurales celulosa y hemicelulosa, y un limitado ataque de los microorganismos ruminales sobre los sustratos⁽³⁷⁾.

El potencial de producción de gas *in vitro* ($a + b$; promedio = $119.7 \text{ mL } 500 \text{ mg}^{-1} \text{ MS}$) fue mayor ($P < 0.05$) en las muestras de pasto Pangola y menor en las de los pastos Guinea y Bermuda, teniendo el pasto Tanzania los valores intermedios. El valor promedio encontrado en el presente estudio fue similar al de 54 forrajes toscos (127 mL)⁽³⁰⁾.

En los pastos Pangola y Bermuda se registraron las concentraciones más altas ($P < 0.05$) para los ácidos acético, propiónico (solamente Pangola) y butírico, así como para la producción total de ácidos grasos volátiles (Cuadro 3), mientras que las muestras de Tanzania y Guinea registraron los valores más bajos ($P < 0.05$) para la producción de cada ácido graso, así como del total de ácidos grasos. Se observaron concentraciones intermedias para el ácido propiónico en el pasto Bermuda. Esto puede ser el resultado de diferencias en el contenido de componentes químicos, como la FDN, que tiende a producir menor cantidad de gas y de AGV (principalmente propiónico) por unidad de sustrato incubado⁽¹⁷⁾. Además, el alto contenido de cenizas en los pastos Tanzania y Guinea pudo

in Pangola grass also, and the lower in Guinea and Bermuda grasses. The high b value found in Pangola grass could result in higher energy intake by ruminants. The average value found in the present study ($121 \text{ mL } 500 \text{ DM mg}^{-1}$) was higher than the $90 \text{ mL } 500 \text{ DM mg}^{-1}$ reported for maize stubble⁽³¹⁾. On the other hand, b values lower than $64 \text{ mL } 500 \text{ DM mg}^{-1}$ have been found in leaves of tropical trees and shrubs⁽³²⁾. This can be explained due to differences in nutrient availability necessary to maintain fermentation. For example, chemically treated straw samples produce more gas *in vitro* than those without any treatment⁽³³⁾.

The higher ($P < 0.05$) degradability rate c was found in Guinea Grass ($4.25 \% \text{ h}^{-1}$) while lower for Pangola and Tanzania grasses (Table 2). High c degradability rates indicate high nutrient availability for ruminal microorganisms, while lower c values could be the result of greater NDF content whose chemical components could slow down substrate fermentation speed⁽³⁴⁾. Neutral detergent fiber, but mainly lignin from leaves from trees and shrubs in the semiarid areas of North Mexico could be held responsible for low *in vitro* gas production⁽³⁵⁾. The negative effect of lignin can be attributed to the physical obstruction of the structural carbohydrates cellulose and hemicellulose and to a limited attack by microorganisms on substrates⁽³⁷⁾.

The potential *in vitro* gas production ($a + b$; average = $119 \text{ mL } 500 \text{ DM mg}^{-1}$) was greater ($P < 0.05$) in Pangola grass samples and lower in Guinea and Bermuda grasses, being Tanzania in middle values. The average $a + b$ value registered in the present study, was similar to that found for 54 roughages (127 mL)⁽³⁰⁾.

The higher concentrations of acetic, propionic (Pangola only) and butyric acids ($P < 0.05$) and also of total volatile fatty acid production (Table 3) were found in Pangola and Bermuda grasses, while Tanzania and Guinea grasses showed the lower values ($P < 0.05$) for each and total fatty acids. Intermediate values for propionic acid were recorded in Bermuda grass. This could be the result of differences in chemical component contents, as NDF, which show a trend to produce less gas and

haber contribuido a una menor producción de AGV⁽³⁸⁾. Las concentraciones más altas de AGV totales en Pangola y Bermuda (23 mM L⁻¹) pueden estar relacionadas con su mayor fermentación⁽³⁹⁾, lo cual puede resultar en una mayor disponibilidad de energía para el animal. En el presente estudio los valores de AGV fueron menores para los pastos Pangola y Bermuda que los observados en una amplia variedad de ingredientes (28 a 44 mM L⁻¹)⁽¹⁷⁾ y muestras de ensilados de maíz y pastos de alta y baja digestibilidad (50 mM AGV L⁻¹)⁽⁴⁰⁾. Por otra parte, la concentración de AGV totales en nuestros pastos fue mayor a la reportada para heno de gramíneas (7.4 mM L⁻¹)⁽⁴¹⁾.

En este estudio, la relación entre la concentración de AGV totales y la producción de gas *in vitro* (considerada como indicador de la generación de AGV)⁽¹⁷⁾ fue significativa ($r=0.53$; $P<0.01$); sin embargo, esta relación fue menor a la reportada ($r=0.95$) para una amplia variedad de alimentos⁽⁴²⁾ y para especies arbustivas ($r=0.76$)⁽¹⁷⁾.

La relación más alta de ácido acético:ácido propiónico (A:P) fue para Bermuda ($P<0.05$), y la más baja para Pangola y Tanzania. La relación A:P promedio en el presente estudio (4.2) fue mayor a la obtenida con heno de alfalfa (3.2) y trébol (4.0)⁽⁴³⁾, así como para alfalfa (2.4), pasto bromo

VFA (mainly propionic) for each unit of incubated substrate⁽¹⁷⁾. In addition, high ash content in both Tanzania and Guinea grasses could have resulted in lower VFA production⁽³⁸⁾. The higher total VFA concentration in Pangola and Bermuda grasses (23 mM L⁻¹) could be linked to their greater fermentation⁽³⁹⁾, which could result in more available energy. In the present study, VFA values were lower for Bermuda and Pangola grasses than for a wide variety of ingredients (28 – 44 mM L⁻¹)⁽¹⁷⁾ and samples of maize silage and high and low digestibility grasses (50 mM VFA L⁻¹)⁽⁴⁰⁾. On the other hand, total VFA concentration and *in vitro* gas production in our grasses was higher than those reported for grass hay (7.4 mM L⁻¹)⁽⁴¹⁾.

In the present study, relationship between total VFA concentration and *in vitro* gas production (considered as an indicator of VFA generation)⁽¹⁷⁾ was statistically significant ($r=0.53$; $P<0.01$). however, this ratio was lower than that ($r=0.95$) reported for a wide variety of feeds⁽⁴²⁾ and shrubs ($r=0.76$)⁽¹⁷⁾.

The highest acetic:propionic acids ratio (A:P) was found in Bermuda Grass ($P<0.05$) and the lowest in Pangola and Tanzania. The average A:P ratio found in the present study (4.2) was higher than the one obtained for alfalfa hay (3.2) and clover

Cuadro 3. Perfil de ácidos grasos volátiles (mM/L⁻¹) de pastos tropicales usados en sistema de producción de ganado de doble propósito en el noreste de México

Table 3. Volatile fatty acid profile (mM L⁻¹) in tropical grasses used in dual purpose cattle production systems in Northeastern Mexico

Grass	Volatile fatty acids (VFA)				
	Acetic	Propionic	Butyric	Total VFA	A:P ratio
Guinea	10.2 ^b	2.48 ^c	1.35 ^b	14.7 ^b	4.15 ^{ab}
Bermuda	16.6 ^a	3.50 ^b	1.75 ^{ab}	23.3 ^a	4.78 ^a
Pangola	16.0 ^a	4.20 ^a	2.18 ^a	23.2 ^a	3.82 ^b
Tanzania	10.6 ^b	2.64 ^c	1.53 ^b	15.4 ^b	4.07 ^b
Mean	13.4	3.20	1.70	19.2	4.20
SEM	1.01	0.27	0.30	1.24	0.40

SEM= Standard error of the mean.

a,b,c Means within columns with different superscripts differ ($P<0.05$).

(1.9) y paja de trigo (2.1)⁽⁴⁴⁾. Por el contrario, en estudios *in vivo* se han encontrado relaciones A:P tan altas como 7.7 en pasto elefante verde y de 6.3 para maíz verde en estado de grano lechoso⁽⁴⁵⁾. Cuando se proporcionan cantidades altas de sustratos fácilmente digestibles a los microbios del rumen, se incrementa la producción de ácidos propiónico y butírico^(27,46). En el presente estudio, es probable que el elevado contenido de NDF en el Bermuda haya provocado una producción proporcionalmente menor de ácido propiónico, respecto a la de ácido acético, provocando una relación A:P más alta.

El sustrato no degradado determinado a partir de la producción de gas *in vitro* a las 24 h, permite hacer una estimación rápida de la digestibilidad aparente de la MS⁽⁴⁷⁾. Además, a partir de este residuo es posible conocer la repartición del sustrato fermentado que corresponde a la producción de AGV y de células microbianas⁽⁴⁸⁾. La degradación aparente del sustrato después de 24 h de incubación *in vitro* fue mayor (38.4 %; $P < 0.05$) para Pangola y menor ($P < 0.05$; 30.6 %) para Guinea, mientras que los valores para Bermuda y Tanzania fueron intermedios (Cuadro 4). Los valores reportados de degradabilidad aparente de muestras incubadas durante 24 h varían ampliamente. En muestras de hojas de maíz los resultados fueron de 42 a 45 %⁽⁴⁴⁾, en muestras de *Stylosanthes macrocephala* de 35.7 %⁽⁴⁹⁾, mientras que para muestras de forrajes etíopes se han reportado valores inferiores a 40 %⁽⁵⁰⁾, similares a los registrados en el pasto Pangola.

La determinación de proteína microbiana mediante la técnica de gas *in vitro* permite seleccionar aquellos forrajes que expresan un alto potencial para la producción de biomasa microbiana en el rumen⁽¹²⁾; esta producción de biomasa microbiana, determinada después de 24 h de incubación, y expresada como mg de RNA/100 mg de sustrato aparentemente degradado fue similar ($P > 0.05$) en los pastos estudiados (Cuadro 4), aunque se observó un incremento numérico en el pasto Pangola (1.01 mg de RNA/100 mg de sustrato aparentemente degradado). Si se considera la degradabilidad de las muestras, y que la relación: N de los ácidos

hay (4.0)⁽⁴³⁾, as well as for alfalfa (2.4), brome (1.9) and wheat straw (2.1)⁽⁴⁴⁾. On the contrary, in *in vivo* studies, A:P ratios as high as 7.7 have been reported for fresh Elephant grass and 6.3 for fresh maize at the milk grain stage⁽⁴⁵⁾. When high amounts of easily digestible substrates are provided to rumen microbes, the amount of both butyric and propionic acids increases^(27,46). In the present study, most probably the high NDF content in Bermuda grass resulted in a proportionately lower propionic acid production respect of acetic acid, thus causing a higher A:P ratio.

The non degraded substrate after 24 h *in vitro* gas production, allows for a quick estimate of DM apparent digestibility⁽⁴⁷⁾. In addition, it is possible to determine the partitioning of the fermented substrate to VFA production and to microbial cells⁽⁴⁸⁾. Substrate apparent degradation after 24 h *in vitro* incubation was greater (38.4 %; $P < 0.05$) in Pangola grass and smaller (30.6 %; $P < 0.05$), in Guinea grass, while values for Bermuda and Tanzania grasses were in between (Table 4). Reported values for apparent degradability of samples incubated for 24 h show wide variability.

Cuadro 4. Sustrato degradado a 24 h de incubación (% MS) y producción de biomasa microbiana (mg RNA/100 mg de sustrato aparentemente degradado) de pastos tropicales

Table 4. Degraded substrate after 24 h de incubation (DM %) and microbial biomass production (mg RNA 100 mg⁻¹ apparently degraded substrate) in tropical grasses

Grass	Degraded DM	Microbial biomass
Guinea	30.6 ^b	0.822 ^a
Bermuda	36.5 ^{ab}	0.888 ^a
Pangola	38.4 ^a	1.011 ^a
Tanzania	34.2 ^{ab}	0.888 ^a
Mean	32.4	0.903
SEM	4.28	0.212

SEM = Standard error of the mean.

^{ab} means within columns with different superscripts differ ($P < 0.05$).

nucleicos (base RNA)/total de N en las bacterias aisladas es de 0.149⁽¹⁹⁾ además de que su contenido en N es de 10 % en base a la materia seca⁽²⁷⁾, se estimó una producción de 130.3 mg de biomasa microbiana/500 mg MS incubada para el pasto Pangola. Se han publicado producciones de biomasa microbiana de 101.4 y 114.9 mg/500 mg MS, para muestras de hojas secas de maíz⁽⁴²⁾ así como de 125.1, 149.4 y 197.4 mg/500 mg MS en rastrojo de maíz, heno de avena y heno de alfalfa, respectivamente⁽⁵¹⁾.

El contenido de ED fue 12 % menor al reportado para *Brachiaria brisanta* (2.25), *Cynodon dactylon* (1.66) y *Panicum maximum* (2.1 Mcal kg⁻¹ MS), mientras que el contenido de EM fue 19 % menor al promedio reportado por algunos autores⁽⁵²⁾.

Los resultados de EM del presente estudio (Cuadro 5) para los pastos Guinea, Bermuda, Tanzania y Pangola (promedio=1.33 Mcal/Kg MS) son inferiores en 39 % a los reportados en tablas de requerimientos^(21,53). Con el propósito de determinar el contenido de EM de los forrajes, se deben considerar las pérdidas de energía por la orina, metano y heces. La relación EM/ED varió de 0.73 a 0.79 y fue menor que la relación (0.82) propuesta también por tablas de alimentación⁽⁵⁴⁾. En base al contenido de EM, estimado por medio de su producción de gas *in vitro*, el pasto Pangola se identificó como la mejor fuente de forraje disponible en la región y en la época en que se tomaron las muestras analizadas en el presente estudio.

La determinación convencional (Weende+ Van Soest) de la composición química de los pastos estudiados, en términos de su contenido en PC, FDN, así como mediante los procedimientos de producción de gas a 24 h, tasa constante de producción de gas, substrato degradado a 24 h y producción de biomasa microbiana, realizados en el presente trabajo, permitieron reconocer el potencial nutritivo del pasto Pangola para bovinos en pastoreo, mientras que los pastos Tanzania y Guinea, resultaron ser los de menor valor nutritivo. La técnica de producción de gas *in vitro* permitió obtener, además, información específica sobre el proceso de digestión, lo cual conduce a la

In maize leaves results varied from 42 to 45 %⁽⁵⁰⁾, very similar to those found in Pangola grass.

Microbial protein determination through the *in vitro* gas production technique allows selecting those forages which express high potential for microbial biomass production in rumen⁽¹²⁾. This microbial biomass, determined after 24 h incubation and expressed as RNA mg 100 mg⁻¹ apparently degraded substrate, was very similar ($P<0.05$) in the grasses being analyzed in the present study (Table 4), although a numerical increase was observed in Pangola grass (1.01 mg 100 mg⁻¹ apparently degraded substrate). If sample degradability is taken into account as well as the N in nucleic acids : total N in isolated bacteria ratio, which is equal to 0.149⁽¹⁹⁾; and also that the bacterial N content is equal to 10 % on a DM basis⁽²⁷⁾, a production of 130.3 mg microbial biomass 500 mg⁻¹ incubated DM was estimated for Pangola grass. Microbial biomass productions of 101.4 and 114.9 mg 500 mg⁻¹ DM have been published for dry maize leaves⁽⁴²⁾, as well as of 125.1, 149.4 and 197.4 mg 500 mg⁻¹ DM for maize stubble, oats hay and alfalfa hay, respectively⁽⁵¹⁾.

Digestible energy content was 12 % lower than that reported for *Brachiaria brizantha* (2.25),

Cuadro 5. Contenido en energía bruta (GE), digestible (DE) y metabolizable (ME) (Mcal kg⁻¹ MS) de pastos tropicales usados en sistema de producción de ganado de doble propósito en el noreste de México

Table 5. Gross energy (GE), digestible energy (DE) and metabolic energy (ME) (Mcal kg⁻¹ DM) in tropical grasses used in dual purpose cattle production systems

Grass	GE	DE	ME
Guinea	3.94 ^b	1.80 ^b	1.37 ^b
Bermuda	4.07 ^a	1.61 ^c	1.18 ^c
Pangola	4.09 ^a	2.07 ^a	1.64 ^a
Tanzania	3.93 ^b	1.57 ^c	1.14 ^c
Mean	4.00	1.76	1.33
SEM	0.035	0.033	0.032

SEM = Standard error of the mean.

a,b,c Means within columns with different superscripts differ ($P<0.05$).

determinación indirecta de la energía metabolizable y la producción de proteína microbiana en los pastos estudiados.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo de PROMEP (Programa de Mejoramiento del Profesorado, SEP) para los Cuerpos Académicos: Producción de Rumiantes de la FMVZ-UJED y Nutrición y Sistemas de Alimentación de la FA-UANL. El apoyo del grupo GGAVATT del Norte de Veracruz y de ANKOM Technology Inc. (Macedon, NY) se reconoce ampliamente.

LITERATURA CITADA

1. Améndola R, Castillo E, Martínez PA. Country pasture/forage resource profiles. México. In: Country pasture profiles. 2005. [on line] <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/Counprof/Mexico/Mexico2.htm>. Accessed Nov 21, 2007.
2. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 1991;74:3583-3597.
3. Yan T, Agnew RE. Prediction of nutritive value in grass silages: I. Nutrient digestibility and energy concentration using nutrient composition and fermentation characteristics. *J Anim Sci* 2004;82:367-1379.
4. FAO. Animal Feed Resources Information System 2006. [on line] <http://www.fao.org/ag/AGA/AGAP/FRG/AFRIS/Data>. Accessed Aug 25, 2007.
5. Mould FL, Morgan R, Kliem KE, Krysstallidou E. A review and simplification of the *in vitro* incubation medium. *Anim Feed Sci Technol* 2005;(123-124):155-172.
6. Menke KH, Steingass H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim Res Develop* 1988;28:7-55.
7. Rymer C, Huntington JA, Williams BA, Givens DI. *In vitro* cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Anim Feed Sci Technol* 2005;(123-124):9-30.
8. Blümmel M, Ørskov ER. Comparison of *in vitro* gas production and nylon bag degradability of roughages in prediction of feed intake in cattle. *Anim Feed Sci Technol* 1993;40:109-119.
9. Opatpatanakit Y, Kellaway RC, Lean IJ, Annison G, Kirby A. Microbial fermentation of cereal grains *in vitro*. *Aust J Agric Res* 1994;54:1247-1263.
10. Ammar H, López S, González JS. Assessment of the digestibility of some Mediterranean shrubs by *in vitro* techniques. *Anim Feed Sci Technol* 2005;119:323-331.
11. Ortiz-Tovar, López-Miranda G, Cerrillo-Soto MA, Juárez-Reyes A, Favela-Torres E, Soto-Cruz O. Effect of solid substrate

Cynodon dactylon (1.66) and *Panicum maximum* (2.1 Mcal kg⁻¹ DM), while ME content was 19 % lower than the average reported by other authors⁽⁵²⁾.

Results for ME in the present study (Table 5) for Guinea, Bermuda, Tanzania and Pangola grasses (average = 1.33 Mcal kg⁻¹ DM) were 39 % lower than those published in nutrient requirements tables^(21,53). With the purpose of determining ME in forages, energy losses through urine, methane and feces should be taken into account. The ME : DE ratio ranged from 0.73 to 0.79, lower also than the ratio (0.82) suggested in energy and protein requirements tables⁽⁵⁴⁾. Based on ME contents, estimated through *in vitro* gas production, Pangola grass was identified as the best forage source for the area and season in which samples analyzed in the present study were collected.

Conventional chemical analyses (Weende + Van Soest) of chemical composition of the studied grasses, in terms of CP, NDF added to 24 h gas production procedures, constant rate of gas production, degraded substrate at 24 h and microbial biomass production carried out in the present study allowed to rank the Pangola grass as the forage with the best nutritive potential for grazing cattle, while Tanzania and Bermuda grasses were ranked lower. The *in vitro* gas production technique allowed obtaining specific data on digestion processes, which in turn it may be used for indirect estimation of metabolizable energy and microbial protein production of fermented grasses.

ACKNOWLEDGMENTS

Authors widely appreciate the support from PROMEP (Programa de Mejoramiento del Profesorado, SEP) for the Academic Groups: Ruminant Production FMVZ-UJED and Nutrition and Feeding Systems FA-UANL. Support from the Norte de Veracruz GGAVAT and ANKOM Technology Inc. (Macedon, NY, USA) is also fully recognized.

End of english version

- fermentation on the nutritional quality of agro-industrial residues. *Interciencia* 2007;32(5):339-343.
12. Makkar HPS. *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. *Anim Feed Sci Technol* 2005;(123-124):291-302.
 13. INEGI. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Anuario Estadístico del Estado de Veracruz. México. 2006. [on line] <http://www.inegi.gob.mx>. Consultado Nov 22, 2007.
 14. Tejada HI, Carrasco B. La toma de muestra, su conservación y envío al laboratorio. Manual de técnicas de investigación en rumiología. Castellanos RA, Llamas LI G, Shimada MA editores. México 1990.
 15. AOAC. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 15th Ed. Arlington, VA. 1990.
 16. Ørskov ER, McDonald L. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to the rate of passage. *J Agric Sci Cambridge* 1979;92:499-503.
 17. Getachew G, Robinson PH, DePeters EJ, Taylor SJ. Relationships between chemical composition, dry matter degradation and *in vitro* gas production of several ruminant feeds. *Anim Feed Sci Technol* 2004;111:57-71.
 18. Baba ASH, Castro FB, Ørskov ER. Partitioning of energy and degradability of browse plants *in vitro* and the implications of blocking the effects of tannin by the addition of polyethylene glycol. *Small Rumin Res* 2002;95:93-104.
 19. Zinn RA, Owens FN. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. *Can J Anim Sci* 1986;66:157-166.
 20. Makkar HPS, Becker K. Purine quantification in digesta from ruminant animals by spectrophotometric and HPLC methods. *Br J Nutr* 1999;81:107-111.
 21. Kearl LC. Nutrient requirements of ruminants in developing countries. International feedstuffs institute, Utah. Agric Exp Station. Utah State University, Logan, Utah, USA; 1982.
 22. Cody RP, Smith JK. Applied statistics and the SAS programming language. 4th ed., Upper Saddle River, New Jersey. 1997.
 23. Martín PC. Valor nutritivo de las gramíneas tropicales. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 1998;32:1-10.
 24. NRC. National Research Council. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th ed. National Academy Press. Washington, USA. 1996.
 25. Johnson WL, de Oliveira ER. Nutrients needs and improved feeding systems. In: Improving meat goat production in the semiarid tropics. Johnson WC, de Oliveira ER editors. Brazil: EMBRAPA, Sobral, C.E. 1989;67-74.
 26. Stern MD, Hoover WH. Methods for determining and factors affecting ruminal microbial protein synthesis: A Review. *J Anim Sci* 1979;49:1590-1603.
 27. Van Soest PJ. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. USA: Cornell University Press; 1994.
 28. Südekum KH. Monosaccharide composition of cell-wall carbohydrates. Digestion and absorption. *Liv Prod Sci* 1994;39:71-79.
 29. Jung HG, Allen MS. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *J Anim Sci* 1995;73:2774-2790.
 30. Blümmel M, Becker K. The degradability characteristics of fifty four roughages and roughage neutral-detergent fibers as described by *in vitro* gas production and their relationship to voluntary feed intake. *Br J Nutr* 1997;77:757-768.
 31. Tuah AK, Okai DB, Ørskov ER, Kyle D, Shand W, Greenhalgh JFD, Obese FY, Karikari PK. In sacco dry matter degradability and *in vitro* gas production characteristics of some Ghanaian feeds. *Liv Res Rural Develop* 1996;8(1). [on line] <http://www.cipav.org.co/lrrd/>. Accessed Aug 5, 2007.
 32. Ly J, Van Lai N, Preston TR. A study of washing losses and *in vitro* gas production characteristics of nine leaves from tropical trees and shrubs for ruminants. *Liv Res Rural Develop* 1997;9(3). [on line] <http://www.cipav.org.co/lrrd/> Accessed July 24, 2007.
 33. Ørskov ER. Trails and trials in livestock research. Internat Feed Resource Unit. Scotland UK. 2002.
 34. Fievez V, Babayemi OJ, Demeyer D. Estimation of direct and indirect gas production in syringes: A tool to estimate short chain fatty acid production that requires minimal laboratory facilities. *Anim Feed Sci Technol* 2005;(123-124):197-210.
 35. Cerrillo MA, Juárez AS. *In vitro* gas production parameters in cacti and tree species commonly consumed by grazing goats in a semiarid region of North Mexico. *Liv Res Rural Develop* 2004;16(4). [on line] <http://www.cipav.org.co/lrrd/>. Accessed Aug 25, 2007.
 36. García-Rodríguez A, Mandaluniz N, Flores G, Oregui LM. A gas production technique as a tool to predict organic matter digestibility of grass and maize silage. *Anim Feed Sci Technol* 2005;(123-124):267-276.
 37. Waghorn GC, McNabb WC. Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants. *Proceed Nutr Soc* 2003;62:383-392.
 38. Yang HJ, Tamminga S, Williams BA, Dijkstra J, Boer H. *In vitro* gas and volatile fatty acids production profiles of barley and maize and their soluble and washout fractions after feed processing. *Anim Feed Sci Technol* 2005;120:125-140.
 39. Tejido ML, Ranilla MJ, Carro MD. *In vitro* digestibility of forages as influenced by source of inoculum (sheep rumen versus Rusitec fermenters) and diet of the donor sheep. *Anim Feed Sci Technol* 2002;97:41-51.
 40. Brown VE, Rymer C, Agnew RE, Givens DI. Relationship between *in vitro* gas production profiles of forages and *in vivo* rumen fermentation patterns in beef steers fed those forages. *Anim Feed Sci Technol* 2002;98:13-24.
 41. Huntington JA, Rymer C, Givens DI. The effect of host diet on the gas production profile of hay and high-temperature dried grass. *J Anim Sci* 1998;67:59-64.
 42. Blümmel M, Mgonezulu R, Chen XB, Makkar HPS, Becker K, Ørskov ER. The modification of an *in vitro* gas production test to detect roughage related differences in *in vivo* microbial protein synthesis as estimated by the excretion of purine derivatives. *J Agric Sci Camb* 1999;133:335-340.
 43. El-Meadaway A, Mir Z, Mir PS, Zaman MS, Yanke LJ. Relative efficacy of inocula from rumen fluid or faecal solution for determining *in vitro* digestibility and gas production. *Can J Anim Sci* 1998;78:673-679.
 44. Doane PH, Schofield P, Pell AN. Neutral detergent disappearance and gas and volatile fatty acid production during the *in vitro* fermentation of six forages. *J Anim Sci* 1997;75:3342-3352.
 45. Pathak NN. Comparison of feed intake, digestibility of nutrients and performance of cattle (*B. indicus* and *B. indicus* x *B. taurus* crosses) and Buffaloes (Swamp and Indian). In: Coping with feed scarcity in smallholder livestock systems in developing

VALOR NUTRICIONAL DE PASTOS TROPICALES DEL NORESTE DE MÉXICO

- countries. Ayantunde AA, Fernandez-Rivera, McCrabb editors. Animal Science UR, Wageningen, The Netherlands, University of Reading, Reading, UK, Science Institute of Technology, Zurich, Switzerland and Intern Livest Res Inst, Nairobi, Kenya. 2005:209-233.
46. Van Houtert MFJ. The production and metabolism of volatile fatty acids by ruminants fed roughages. A review. *Anim Feed Sci Technol* 1993;43:189-225.
 47. Salem AZM. Impact of season of harvest on *in vitro* gas production and dry matter degradability of acacia saligna leaves with inoculum from three ruminal species. *Anim Feed Sci Technol* 2005;(123-124):67-69.
 48. Blümmel M, Bullerdieck P. The need to complement *in vitro* gas production measurements with residue determinations from *in sacco* degradabilities to improve the prediction of voluntary intake of hays. *Anim Sci* 1997;64:71-75.
 49. Fondevila M, Nogueira-Filho JCM, Barrios-Urdaneta A. *In vitro* microbial fermentation and protein utilisation of tropical forage legumes grown during the dry season. *Anim Feed Sci Technol* 2002;95:1-14.
 50. Blümmel M, Cone JW, Van Gelder AH, Nshalai I, Umunna NN, Makkar HPS, Becker K. Prediction of forage intake using *in vitro* gas production methods: Comparison of multiphase fermentation kinetics measured in an automated gas test, and combined gas volume and substrate degradability measurements in a manual syringe system. *Anim Feed Sci Technol* 2005; (123-124):517-526.
 51. Blümmel M, Karsli A, Russell R. Influence of diet on growth yields of rumen micro-organisms *in vitro* and *in vivo*: influence on growth yield of variable carbon fluxes to fermentation products. *Br J Nutr* 2003;90:625-634.
 52. Mlay PS, Pereka A, Phiri ECh, Balthazary II, Hvelplund T, Weisbjerg MR, Madsen J. Feed value of selected tropical grasses, legumes and concentrates. *Veterinarski Arhiv* 2006;76(1):53-63.
 53. NRC. Nutrient requirements of beef cattle. Seventh Revised Edition. National Research Council (U.S.). Subcommittee of beef cattle Nutrition; Washington, D.C. National Academic Press;1996.
 54. AFRC. Agricultural and Food Research Council. Energy and protein requirements of ruminants. Alderman G, Cottrill BR editors. CAB International, Wallingford, Oxon OX10 8DE, U.K. 1993.

