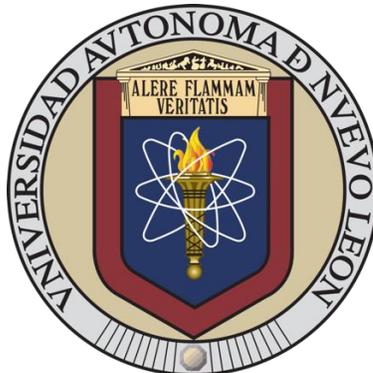


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**POSGRADO CONJUNTO EN CIENCIA ANIMAL**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**“PRODUCCIÓN DE GAS Y ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES DE ALIMENTOS  
INCUBADOS *in vitro* CON LÍQUIDO RUMINAL DE BOVINOS CON  
DIFERENTE CONSUMO RESIDUAL DE ALIMENTO”**

**TESIS PRESENTADA POR**

Ing. Biotec. MANUELA ESTEFANÍA VILLANUEVA LARA

Como requisito parcial para obtener el Grado de

**MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL**

**GRAL. ESCOBEDO, N.L. 02 FEBRERO 2024**

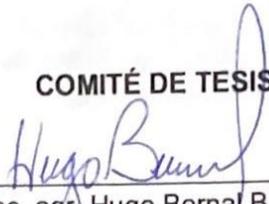
**“Producción de gas y ácidos grasos volátiles de alimentos incubados *in vitro* con líquido ruminal de bovinos con diferente consumo residual de alimento”**

Aprobación de Tesis de Maestría en Ciencia Animal

por el Comité Particular de

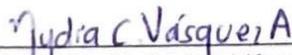
Ing. Biotec. Manuela Estefanía Villanueva Lara

**COMITÉ DE TESIS**



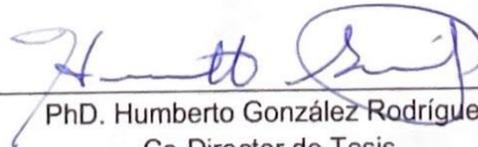
---

Dr. sc. agr. Hugo Bernal Barragán  
Director de Tesis



---

Dra. Nydia Corina Vásquez Aguilar  
Co-Directora de Tesis



---

PhD. Humberto González Rodríguez  
Co-Director de Tesis



---

Dr. Arquímedes Cruz López  
Co-Director de Tesis



---

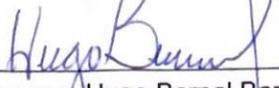
Dr. Nelson Manzanares Miranda  
Co-Director de Tesis

**“Producción de gas y ácidos grasos volátiles de alimentos incubados *in vitro* con líquido ruminal de bovinos con diferente consumo residual de alimento”**

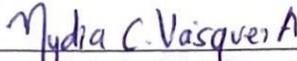
Aprobación de Tesis de Maestría en Ciencia Animal

por el **COMITÉ DE TESIS** de

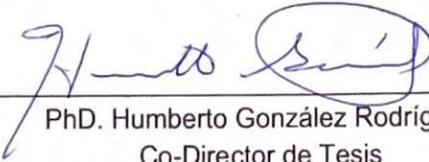
Ing. Biotec. Manuela Estefanía Villanueva Lara



Dr. sc. agr. Hugo Bernal Barragán  
Director de Tesis



Dra. Mydia Corina Vásquez Aguilar  
Co-Directora de Tesis



PhD. Humberto González Rodríguez  
Co-Director de Tesis



Dr. Arquímedes Cruz López  
Co-Director de Tesis



Dr. Nelson Manzanares Miranda  
Co-Director de Tesis



Dr. Uziel Castillo Velázquez  
Subdirector de Posgrado e Investigación

## **DEDICATORIA**

Esta tesis la dedico a mi padre Sr. Baldemar Villanueva Portillo, a mi hermosa madre la Sra. María Alejandra Lara Luna, a mi amado esposo Leonardo Venegas Vicaria, mis hermanos Ing. Ana Elizabeth Villanueva Lara, al más gordo Baldemar Villanueva Lara y a mis mascotas que forman parte de mi familia Dallas, Theodoro, Terra, Drako y Anya, los cuales con su amor eterno me dieron apoyo día a día.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mí amado esposo Leonardo Venegas que día a día me apoyo en mi desarrollo profesional, siendo atento, cooperativo, amoroso y comprensivo dando todo para hacerme feliz, sabes que este pequeño apartado no es suficiente para agradecerte tu apoyo incondicional, te amo.

A mí Sr. Padre Baldemar Villanueva el cual con sus palabras siempre hizo que diera el cien por ciento, gracias papá por ser ese hombre que respeto y admiro en todos los aspectos.

A mi amada madre María Alejandra Lara Luna, gracias por siempre estar pendiente de mí, apoyarme en cada proyecto, tus sabias palabras hacen crecer mis ganas de ser mejor, te amo madre.

A mis hermanos Ing. Ana Elizabeth y Baldemar gracias por sus palabras y ser la alegría que hace que mis problemas se olviden, gracias por ser mi apoyo incondicional.

Al Dr. Hugo Bernal Barragán por dejarme ser parte de esta gran investigación, brindando su apoyo desde el inicio de esta maestría, gracias Doctor por el conocimiento, así como sus palabras de ánimo en cada semestre cursado.

A la Dra. Nydia Vásquez Aguilar por su gran apoyo, así como su paciencia, sus recomendaciones y la ayuda brindada en cada parte experimental.

Al Dr. Humberto González Rodríguez por su gran apoyo en la parte experimental y sus aportaciones hacía esta investigación.

Al Dr. Arquímedes Cruz López por el apoyo en la parte experimental, su conocimiento y la gran colaboración que nos dio en esta investigación.

Al Dr. Nelson Manzanares Miranda por su gran aporte en la parte experimental, brindando su apoyo para poder iniciar esta investigación.

En general a todo mi comité, gracias por siempre apoyarme de muchas formas para poder lograr este grado académico, son personas que respeto y admiro.

A mis compañeros y amigos MCA. Sebastián Sáenz, MCA. Carlos Gaona e Ing. Esteban de Hoyos, por su apoyo en esta investigación los admiro mucho y agradezco por haber coincidido en esta etapa.

A la MCA. Lourdes Ixchel Xochipa, gracias amiga por darme tu amistad, tu cariño, por escucharme y aguantarme, te quiero mucho, no tengo palabras para agradecerte todo lo que me ayudaste.

A mis amigos MCA. Jonathan Perales y MCA. Pilar Salas gracias por hacer divertida cada clase compartida los quiero.

Y en especial a mí, por lograr obtener un posgrado y seguir adelante.

# ÍNDICE

	Índice	vii
	Índice de figuras	ix
	Índice de cuadros	xi
	Lista de símbolos y abreviaturas	xiii
	Resumen	1
	Summary	2
1	Introducción	3
2	Revisión de literatura	4
2.1	Consumo residual de alimento (CRA, RFI)	4
2.2	Dietas experimentales	7
2.3	Producción de gas <i>in vitro</i>	9
2.4	Digestibilidad <i>in vitro</i>	10
2.5	Energía metabolizable	11
2.6	Ácidos grasos volátiles	13
2.7	Justificación	17
2.8	Objetivos del proyecto de investigación	17
2.8.1	Objetivo general	17
2.8.2	Objetivos específicos	17
2.9	Hipótesis	18
3	Materiales y Métodos	19
3.1	Evaluación para la clasificación de Consumo Residual de Alimento	19
3.2	Obtención de líquido ruminal	20
3.3	Preparación de dietas experimentales	20
3.4	Análisis Bromatológicos de las dietas experimentales	21

<b>3.5</b>	Producción de gas <i>in vitro</i>	<b>22</b>
<b>3.6</b>	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la Materia Orgánica y contenido de Energía metabolizable de las dietas experimentales evaluadas	<b>23</b>
<b>3.7</b>	Concentración de AGVs	<b>24</b>
<b>3.8</b>	Análisis Estadístico	<b>25</b>
<b>4</b>	Resultados	<b>27</b>
<b>4.1</b>	Prueba de alimentación para evaluar y clasificar los bovinos de acuerdo a su Consumo Residual de Alimento (RFI)	<b>27</b>
<b>4.2</b>	Valor nutritivo de las dietas experimentales	<b>28</b>
<b>4.3</b>	Producción de gas <i>in vitro</i>	<b>29</b>
<b>4.4</b>	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia orgánica y contenido de energía metabolizable de las dietas experimentales	<b>32</b>
<b>4.5</b>	Concentración de ácidos grasos volátiles	<b>33</b>
<b>4.6</b>	Proporción de ácidos grasos volátiles	<b>36</b>
<b>5</b>	Discusión	<b>39</b>
<b>5.1</b>	Consumo Residual de Alimento	<b>39</b>
<b>5.2</b>	Dietas Experimentales	<b>41</b>
<b>5.3</b>	Producción de Gas (PGIV)	<b>44</b>
<b>5.4</b>	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la Materia Orgánica	<b>46</b>
<b>5.5</b>	Energía Metabolizable (EM)	<b>50</b>
<b>5.6</b>	Ácidos Grasos Volátiles (AGVs)	<b>51</b>
<b>6</b>	Conclusiones	<b>55</b>
<b>7</b>	Referencias bibliográficas	<b>56</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Representación gráfica de la relación entre consumo esperado y el consumo real de materia seca de alimento. Basada en Sainz y Paulino (2004).	<b>5</b>
<b>Figura 2.</b>	Niveles de utilización de la energía en los animales. Modificada de la NRC, 2016.	<b>12</b>
<b>Figura 3.</b>	Metabolismo de Carbohidratos en rumiantes. Basado en Ramírez-Lozano (2009).	<b>14</b>
<b>Figura 4.</b>	Valores promedio de producción de gas in vitro (mL/200mg) al incubar la dieta alta en concentrado (80C:20F) con el inóculo ruminal de animales con RFI Bajo (línea color verde) y animales con RFI Alto (línea color rojo).	<b>30</b>
<b>Figura 5.</b>	Producción de gas in vitro (mL/200 mg) al incubar la dieta 2 alta en forraje (20C:80F) con líquido ruminal de bovinos con RFI Bajo (línea color verde) y bovinos con RFI Alto (línea color rojo).	<b>31</b>
<b>Figura 6.</b>	Curva estándar del ácido acético.	<b>33</b>
<b>Figura 7.</b>	Curva estándar del ácido propiónico.	<b>34</b>
<b>Figura 8.</b>	Curva estándar del ácido butírico.	<b>34</b>

- Figura 9.** Concentración total promedio (n=4) de los ácidos grasos volátiles acético, propiónico y butírico, al incubar una dieta alta (1) en concentrado (80C:20F) y una dieta (2) alta en forraje (20C:80F) con inóculo ruminal de bovinos con RFI Alto (color rojo) y RFI Bajo (color verde). **35**
- Figura 10.** Proporción de ácido acético al incubar una dieta (1) alta en concentrado (80C:20F) y una dieta (2) alta en forraje (20C:80F) con inóculo ruminal de bovinos con RFI Alto (color rojo) y RFI Bajo (color verde). **36**
- Figura 11.** Proporción de ácido propiónico al incubar una dieta alta (1) en concentrado (80C:20F) y una dieta (2) alta en forraje (20C:80F) con inóculo ruminal de bovinos con RFI Alto (color rojo) y RFI Bajo (color verde). **37**
- Figura 12.** Proporción de ácido butírico al incubar una dieta alta (1) en concentrado (80C:20F) y una dieta alta (2) en forraje (20C:80F) con inóculo ruminal de bovinos con RFI Alto (color rojo) y RFI Bajo (color verde). **38**

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b>	Dietas Experimentales empleadas para calcular el RFI con objetivos de conocer su efecto.	<b>8</b>
<b>Cuadro 2.</b>	Proporción de AGVs acético, propiónico y butírico perteneciente a cada grupo de animales de RFI divergente utilizando una misma dieta.	<b>15</b>
<b>Cuadro 3.</b>	Proporción de AGVs acético, propiónico y butírico perteneciente a cada grupo de animales de RFI divergente utilizando diferente dieta (alta en concentrado y alta en forraje).	<b>16</b>
<b>Cuadro 4.</b>	Promedios $\pm$ Desv. Std., de los valores de RFI, peso inicial, peso final, ganancia de peso, la ingesta de materia seca y su conversión alimenticia (F:G) en los bovinos seleccionados con RFI Bajo (n=4) y con RFI Alto (n=4).	<b>27</b>
<b>Cuadro 5.</b>	Valor nutritivo ( n=3) de las dietas experimentales.	<b>28</b>
<b>Cuadro 6.</b>	Resumen del análisis de la varianza de acuerdo a un diseño experimental completamente aleatorio con arreglo factorial para los parámetros de Producción de gas a las 24 h (mL/200 mg), EM (Mcal/kg) y DIVMO (%) de dos dietas (n= 16 por dieta) evaluadas con inóculo ruminal de bovinos con RFI Alto y RFI Bajo (n= 16 por tipo de inóculo).	<b>29</b>

<b>Cuadro 7.</b>	Comparación de resultados obtenidos de producción de gas al utilizar la técnica in vitro de PGIV por diferentes autores comparándola con los resultados obtenidos en la presente investigación.	<b>45</b>
<b>Cuadro 8.</b>	Comparación de resultados obtenidos de DIVMO de diferentes autores para comparar con los resultados obtenidos en la presente investigación.	<b>49</b>

## LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURA

<b>Símbolo o Abreviatura</b>	<b>Descripción</b>
<b>20C:80F</b>	20Concentrado: 20Forraje (%)
<b>80C:20F</b>	80Concentrado: 20Forraje (%)
<b>ADP</b>	Aumento de peso diario
<b>AGVs</b>	Ácidos Grasos Volátiles
<b>BW</b>	Peso Corporal
<b>CG</b>	Cromatógrafo de Gases
<b>CMS</b>	Consumo de materia seca
<b>DIVMO</b>	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia orgánica
<b>EM</b>	Energía Metabolizable
<b>F: G</b>	Consumo de alimento: ganancia de peso
<b>FDN</b>	Fibra detergente neutra
<b>FID</b>	Detector de Ionización de Flama
<b>GEI</b>	Gases de efecto invernadero
<b>h</b>	heredabilidad
<b>h</b>	horas
<b>kg</b>	Kilogramo
<b>mg</b>	miligramo
<b>min</b>	minutos
<b>mL</b>	mililitros
<b>mm</b>	milímetro

<b>MS</b>	Materia seca
<b>N</b>	normal
<b>N</b>	Nitrógeno
<b>PG</b>	Producción de gas
<b>PGIV</b>	Producción de Gas <i>in vitro</i>
<b>PVDF</b>	fluoruro de polivinilideno
<b>RFI</b>	Residual Feed Intake (consumo residual de alimento)
<b>rpm</b>	Revoluciones por minuto
<b>SNPs</b>	Polimorfismos de nucleótido único
<b>μL</b>	microlitro
<b>μm</b>	micrómetro

## RESUMEN

En esta investigación el objetivo principal fue determinar la producción de gas *in vitro* (PGIV) y las proporciones de Ácidos Grasos Volátiles (AGVs) utilizando dos dietas con contenidos diferentes de concentrado (C) y de forraje (F) (80C:20F y 80F:20C). En este estudio, se seleccionaron 4 bovinos con RFI alto (+1.23) y 4 bovinos con RFI bajo (-0.87) de raza Simmental, de un grupo de 68 bovinos evaluados durante 77 días en una prueba de alimentación, utilizando el sistema Grow Safe®, a partir de los cuales se obtuvo líquido ruminal. El líquido ruminal se utilizó para incubar las dos dietas experimentales en jeringas de vidrio graduadas de 100 mL en duplicado y obtener la producción de gas *in vitro*. Las proporciones de AGVs se analizaron en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies® modelo 7820A. Los cálculos del contenido de energía metabolizable (EM) y la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) se realizaron a partir de la PGIV obtenida. Las variables PGIV, DIVMO y EM fueron mayores ( $P < 0.05$ ) en las dietas con alto contenido de concentrado (80C:20F). Se registraron mayores valores ( $P < 0.05$ ) de PGIV (mL gas/200 mg muestra), de DIVMO (%) y de EM (Mcal/kg MS) al incubar con las dietas con inóculo de bovinos con RFI bajo. Las proporciones de AGVs (acético, propiónico y butírico) fueron similares ( $P > 0.05$ ) al emplear inóculo ruminal de bovinos con RFI alto y RFI bajo. Se registró mayor proporción de ácido acético en la dieta alta en forraje ( $P = 0.045$ ), y mayor proporción de ácido propiónico en la dieta alta en concentrado. Los resultados obtenidos en este estudio permiten concluir que los procesos de fermentación ruminal contribuyen junto con mecanismos de absorción y/o metabolismo intermediario de los nutrientes y la energía, en la eficiencia de utilización de nutrientes en bovinos con RFI alto y RFI bajo.

## SUMMARY

In this research, the main objective was to determine the *in vitro* gas production (PGIV) and the proportions of Volatile Fatty Acids (VFAs) using two diets with different contents of concentrate (C) and forage (F) (80C:20F and 80F :20C). In this study, 4 cattle with high RFI (+1.23) and 4 cattle with low RFI (-0.87) of the Simmental breed were selected from a group of 68 cattle evaluated for 77 days in a feeding trial, using the Grow Safe system©, from which ruminal fluid was obtained. The ruminal fluid was used to incubate the two experimental diets in duplicate 100 mL graduated glass syringes and obtain the *in vitro* gas production. The proportions of VFAs were analyzed in an Agilent Technologies® model 7820A gas chromatograph. The calculations of the metabolizable energy content (ME) and the *in vitro* digestibility of organic matter (DIVMO) were carried out from the PGIV obtained. The variables PGIV, DIVMO and ME were higher ( $P<0.05$ ) in diets with high concentrate content (80C:20F). Higher values ( $P<0.05$ ) of PGIV (mL gas/200 mg sample), DIVMO (%) and ME (Mcal/kg DM) were recorded when incubating with diets with bovine inoculum with low RFI. The proportions of VFAs (acetic, propionic and butyric) were similar ( $P>0.05$ ) when using ruminal inoculum from bovines with high RFI and low RFI. A higher proportion of acetic acid was recorded in the high forage diet ( $P=0.045$ ), and a higher proportion of propionic acid in the high concentrate diet. The results obtained in this study allow the conclusion that ruminal fermentation processes contribute, together with mechanisms of absorption and/or intermediate metabolism of nutrients and energy, to the efficiency of nutrient utilization in cattle with high RFI and low RFI.

## 1. INTRODUCCIÓN

La conversión alimenticia, se calcula en forma tradicional como la relación entre el consumo de alimento y la ganancia de peso. Así mismo, la eficiencia alimenticia se establece como la relación entre la ganancia de peso y el consumo de alimento, siendo ambas medidas de eficiencia de utilización de alimentos las más aplicadas en el sector pecuario. Sin embargo, el desarrollo tecnológico ha hecho posible la generación del concepto de Consumo Residual de Alimento (CRA o RFI por sus siglas en inglés: Residual Feed Intake), con el cual se incorpora la medición de la variación individual del consumo de alimento de los animales, y su influencia en la medición de la eficiencia de utilización del alimento (Berry y Crowley, 2013), de tal forma que se clasifica a los animales de acuerdo con la diferencia de su consumo real respecto al consumo esperado, en animales con RFI alto (ineficiente utilización de alimento) o con RFI bajo (eficiente utilización de alimentos) descrita en la Figura 1.

La selección de animales con bajo consumo residual de alimento puede contribuir a mejorar la productividad en la ganadería, al orientar la selección de animales que cubran los requerimientos nutricionales, y logren obtener un crecimiento adecuado, con menor cantidad de alimento. Esto podrá contribuir a la reducción de gas producido en el rumen, especialmente la emisión de Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y Metano (CH<sub>4</sub>), los cuales tienen relevancia como gases con efecto invernadero (Herd *et al.*, 2009), además de una reducción en los costos de producción.

Se han estudiado algunas variables que se asocian a los bovinos con RFI bajo, tales como diferencias en la regulación del apetito, absorción postruminal de nutrientes, metabolismo en la eficiencia de utilización de los piensos y metabolismo de la energía celular. Sin embargo, aún faltan mediciones comparativas de producción de gas al incubar *in vitro* alimentos representativos de rumiantes, con líquido ruminal de bovinos con RFI bajo o RFI alto y conocer su correlación con la proporción de ácidos grasos volátiles.

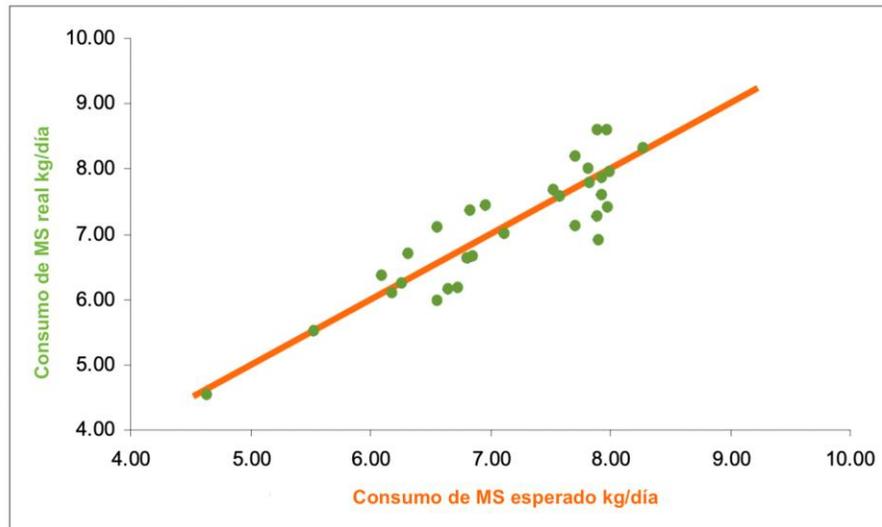
## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Consumo residual de alimento (CRA, RFI)

El consumo residual de alimento, conocido también como RFI (por sus siglas en inglés: Residual Feed Intake) es la medida de eficiencia alimenticia calculada a partir de la diferencia entre el consumo real de alimento y el consumo de alimento que habría sido previsto para los animales y sus datos productivos (Connor *et al.*, 2019; Flay *et al.*, 2019). Se diseñó para estimar la eficiencia metabólica del ganado bovino (Berry y Crowley, 2013), así como de aves de corral (Basso *et al.*, 2012; Willems *et al.*, 2013; Yi *et al.*, 2018; Fathi *et al.*, 2019; Bai *et al.*, 2022), cerdos (Patience *et al.*, 2015; Soleimani y Gilbert, 2020), ovejas (Zhang *et al.*, 2021) y búfalos (Sharma *et al.*, 2017).

El cálculo de RFI se basa en la ingesta y utilización de energía; es independiente de los patrones de crecimiento y desarrollo de los animales (Fan *et al.*, 1995; Liu *et al.*, 1998). La cual se define como la cantidad de la ingesta de alimento no atribuible al incremento de peso (Fathi *et al.*, 2021).

Con el propósito de determinar la eficiencia en el uso de los nutrientes del alimento, se aloja un cierto número de animales, ya sea en forma individual o en un pequeño grupo, con un período de adaptación de al menos 21 días, en un período de evaluación de entre 62 y 84 días (Manafiazar *et al.*, 2017), en el cual se toman medidas de interés como el peso corporal, para calcular su tasa de ganancia diaria de peso, así como el ofrecimiento y rechazo de alimento, para calcular el consumo voluntario de alimento (Sainz y Paulino, 2004). Los resultados obtenidos de esa prueba se evalúan utilizando modelos de regresión (Figura 1), como los propuestos por Koch *et al.* (1963), para relacionar la ganancia de peso de cada animal, con su correspondiente consumo de alimento. Al relacionar el consumo real de alimento de cada animal, con el consumo que se hubiera esperado tener para la tasa de crecimiento lograda, se puede identificar animales con RFI negativo (eficientes) y RFI positivo (ineficientes).



**Figura 1.-** Representación gráfica de la relación entre consumo esperado y el consumo real de materia seca de alimento. Basada en Sainz y Paulino (2004).

Para obtener buenos resultados, es necesario tomar en cuenta factores como la edad de inicio de la prueba, el sexo de los animales, así como la composición de la dieta ofrecida (Wang et al., 2006), evitando que factores externos afecten la ingesta de alimento.

La tecnología GrowSafe® fue desarrollada en Canada que permite determinar el consumo individual de alimento de animales alojados grupalmente en corrales, y permite obtener datos de la frecuencia y duración del consumo de alimento de cada animal alojado en ese corral. Según Mendes et al. (2011) y Clemmons et al. (2021), la tecnología GrowSafe® representa una mejor opción que las barras convencionales de bloqueo en los comederos entre cada animal.

Hietala et al. (2014) evaluaron el impacto productivo de vacas lactantes, clasificadas como de RFI bajo, y reportaron beneficios económicos mayores que los obtenidos al reducir la incidencia de la mastitis clínica.

Macdonald et al. (2014) reportaron que al seleccionar novillas Holstein con RFI bajo, se tenía un ahorro significativo en los costos de alimentación, sin impactar negativamente el rendimiento de la leche, los componentes de la leche, su peso o su condición corporal en el período de su primera lactancia.

Al evaluar características de grupos de animales con RFI divergente, Green et al. (2013), encontraron que los animales más eficientes (con RFI bajo) consumían menor cantidad de alimento, pasaban menos tiempo en los comederos, y dedicaban un tiempo más largo a la actividad de la rumia. Todo ello correspondía a una mejor distribución de sus patrones de alimentación, comparados con los de animales con RFI alto.

Investigaciones con vaquillas Holstein en las que Williams y colaboradores (2011), compararon el consumo de alimento, fertilidad y rendimiento de la leche de animales con respecto a su clasificación de RFI, encontraron que las vaquillas con RFI bajo consumieron entre 15% y 20% menos ( $P < 0.001$ ) que los animales con RFI alto, sin afectar su fertilidad y su rendimiento de la leche. Fitzsimons et al. (2013), determinaron que el ganado con RFI alto consumió 15% más alimento, que el ganado con RFI bajo.

Williams et al. (2011), concluyeron que el clasificar a los animales por RFI podría aumentar la rentabilidad en el área ganadera en períodos de sequía, al contribuir a tener ganado con menor ingesta de alimento y menor generación de residuos nitrosos. También, Nkrumah et al. (2006) y Moore et al. (2009), mencionan que, al seleccionar animales genéticamente más eficientes en la utilización del alimento, se logra reducir los costos de producción y disminuir la generación de gases con efecto invernadero.

Se considera que la eficiencia alimenticia en bovinos es un rasgo multifactorial complejo, que está bajo el control de muchos procesos biológicos, y que representa uno de los factores económicos con mayor impacto en los sistemas ganaderos (Kenny et al., 2018).

Al seleccionar animales genéticamente mejorados para una utilización más eficiente del alimento, se logró reducir los costos de producción y las emisiones de GEI (Nkrumah et al., 2006).

## **2.2 Dietas experimentales**

De acuerdo con Arthur y Herd (2008), para identificar a los animales cuyo consumo de alimento se desvían de la ingesta de alimento esperada, es necesario ofrecer alimento cuyo contenido de energía corresponda a las recomendaciones del Consejo Nacional de investigación (NRC, por sus siglas en inglés) para bovinos de carne (2001) o para ganado de lechero (2016).

Es importante considerar que la precisión de los resultados obtenidos de la prueba de alimentación puede verse influida por la calidad y homogeneidad de la dieta ofrecida (Herd et al., 2004). Algunos ejemplos de dietas utilizadas en trabajos previos de investigación para determinar RFI de bovinos, se muestran en el Cuadro 1.

Richardson et al. (1996) evaluaron la digestibilidad de una dieta peletizada, elaborada con 70% de heno de alfalfa y 30% de concentrado de trigo, en novillas con RFI divergente, y reportaron que las novillas con RFI Bajo tenían el 10% mejor ( $P < 0.10$ ) digestibilidad de materia seca (MS) que las novillas con RFI Alto.

Lawrence y colaboradores (2011), en contraparte al brindar una dieta a base de ensilado ryegrass perenne a novillas con RFI Alto y RFI Bajo no encontraron diferencias significativas en relación con su digestibilidad de MS.

Carberry y colaboradores (2012), al evaluar el efecto de dietas divergentes (baja en forraje y alta en forraje) y su relación con la microbiota ruminal en novillas Limousin x Friesian, concluyeron que existe una asociación entre el fenotipo RFI y el tipo de dieta con el microbioma ruminal en novillas (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Dietas Experimentales empleadas para calcular el RFI con objetivos de conocer su efecto.

<b>Estudios</b>	<b>Animal</b>	<b>Tipo de Dieta</b>
Richardson <i>et al.</i> (1996)	Novillas/Toros	70%F:30%C
Richardson <i>et al.</i> (2004a)	Novillos	80% Concentrado
Brown (2005)	Novillos	Alfalfa:Concentrado
Krueger (2009)	Novillas	75% Forraje
Lawrence <i>et al.</i> (2011)	Novillas Gestantes	Alta en Forraje
Lawrence <i>et al.</i> (2012)	Novillas	Alta en Forraje
Fitzsimons <i>et al.</i> (2014b)	Toros	Alta en Concentrado
Lines <i>et al.</i> (2014)	Novillas	75%F:25%C
McDonnell <i>et al.</i> (2016)	Novillas	70%F:30%C

Swain *et al.* (2018), plantea que la modificación de los sistemas de producción ganadera, así como las mejoras en la dieta, tienen un potencial significativo para reducir los impactos ambientales en la producción de carne.

### **2.3 Producción de gas *in vitro***

La técnica de producción de gas *in vitro* (PGIV) ha sido empleada para predecir la fermentación de piensos a través de una jeringa lubricada. El gas producido durante la fermentación provee información sobre la cinética de fermentación y la digestibilidad del alimento, esto permite clasificar los alimentos con base en estos parámetros a nivel ruminal. Es decir, se propone una evaluación de alimentos a partir de medir la proporción de alimento que se fermenta y de la

producción de gas obtenida *in vitro*, así como de la proporción de ácidos grasos volátiles que se producen por acción de la microbiota del rumen.

Inicialmente McBee (1953) y Hungate (1966) desarrollaron una técnica para estimar la degradabilidad de un alimento en el rumen, mediante la medición de la producción de gas generada a partir de la incubación *in vitro* de muestras de los alimentos. Czerkawski y Breckenridge (1975) desarrollaron una técnica en la que por medio del desplazamiento del émbolo en jeringas de vidrio se podía estimar su fermentación. Trabajos de Menke et al. (1979), modificaron la técnica mediante el uso de una incubadora giratoria, para registrar en intervalos de tiempo de 24 hasta 96 horas, el desplazamiento del émbolo por el gas producido en incubaciones realizadas en jeringas de vidrio.

Menke y Steingass (1988) encontraron una alta correlación entre los resultados de energía metabolizable en pruebas *in vivo* y resultados predichos a partir de la producción de gas *in vitro* (PGIV) a las 24 horas, en combinación con resultados de composición química de las muestras de alimento evaluadas.

Shabat y colaboradores (2016), al buscar algún nexo que pudiera existir entre el RFI con el microbioma ruminal, así como una alternativa para estimar este fenotipo en la eficiencia en la utilización de los piensos, utilizaron la técnica de digestibilidad *in vitro* descrita por Tilley y Terry (1963), en la que utilizaron inóculo ruminal de doce vacas con RFI divergente (seis vacas con RFI Alto y 6 vacas con RFI Bajo) y para incubar muestras de alimento en tubos de vidrio en lapsos de tiempo de 24 o 48 horas (h).

Johnson et al. (2019), intentaron establecer la correlación que existe entre el RFI, la ingesta de MS y su digestibilidad, así como la concentración de AGVs y CH<sub>4</sub> en bovinos. Para ello, utilizaron muestras de líquido ruminal y muestras fecales de novillos Santa Gertrudis y novillas Brangus, para incubar muestras de alimento *in vitro* utilizando viales de 50 mL, tal como lo habían reportado Tedeschi et al. (2009).

Meir y colaboradores (2018), con el objetivo de conocer las particularidades entre vacas con RFI Alto (n=31) y con RFI Bajo (n=31) en relación con su comportamiento alimenticio, rumia, producción de leche y su digestibilidad, utilizaron la metodología descrita por Tilley y Terry (1963), para incubar muestras de alimento y muestras fecales en tiempos de 48 y 72 horas.

#### **2.4 Digestibilidad *in vitro***

Se cuenta con diferentes técnicas para determinar tasas de utilización de nutrientes y alimento por los animales, tales como digestibilidad *in vitro*, *in situ* e *in vivo* (Navarro y Roa, 2020).

La digestibilidad *in vitro*, desarrollada inicialmente por Tilley y Terry (1963), con el objetivo de simular en laboratorio lo que ocurre dentro del tracto digestivo del rumiante, representa una técnica importante para evaluar la calidad de los diferentes forrajes (Gaviria et al., 2015).

Shabat et al. (2016), recolectaron las heces de vacas Holstein Friesian con RFI diferente, y las utilizaron como inóculo en incubaciones *in vitro* de algunos alimentos para conocer la digestibilidad aparente de materia seca. También determinaron el contenido de Fibra Detergente Neutra (FDN) a través de la metodología descrita por Lippke et al. (1986), que fue usada como indicador del análisis de digestibilidad de la materia seca.

Herd y Arthur (2009), sugirieron que los animales con RFI Bajo (eficientes) cuentan con mayor capacidad de digestión de los piensos, mientras que Richardson y Herd (2004), encontraron que animales con RFI divergente, tuvieron diferente capacidad de digestión de materia seca, y diferencias de hasta 14% en la ingesta de alimento.

Bonhila et al. (2017), reportaron tendencias de menor digestibilidad de la materia seca (P=0.0911), digestibilidad de nutrientes totales (P=0.0657), así como

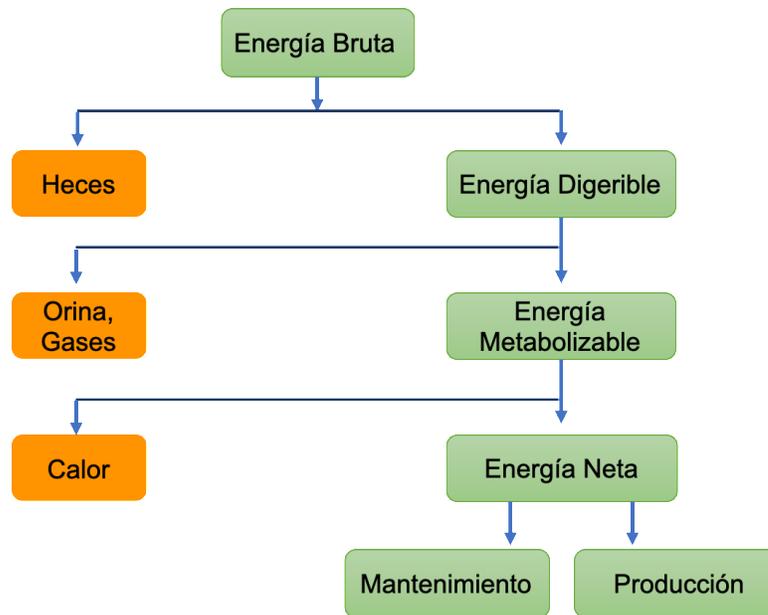
digestibilidad de la materia orgánica ( $P=0.0876$ ), y diferencias significativas con menor digestibilidad de FDN corregida por los valores de ceniza y proteína ( $P=0.0017$ ) en toros Nellore con RFI alto.

Rius et al. (2012), reportaron que vacas lecheras con RFI bajo tenían una disminución en la pérdida de Nitrógeno (N) en las heces, resultando esto en un aumento en la digestibilidad aparente del N, asociada con una tendencia de mayor digestibilidad de materia seca y materia orgánica, logrando incrementar la utilización del Nitrógeno respecto a los resultados obtenidos con vacas de RFI alto.

Según Kenny et al. (2018), existe información contradictoria de mecanismos fisiológicos de digestión física y bioquímica y de absorción de los nutrientes entre animales con RFI divergente. Las diferencias en el proceso de digestión, así como el incremento de calor en la alimentación y su actividad se relacionan con un tercio de la variación del RFI (Herd et al., 2004; Nkrumah et al., 2006).

## **2.5 Energía metabolizable**

Galyean *et al.* (2016), afirmaron que la ingesta de energía es un factor importante en la productividad de la ganadería, y que la disponibilidad de energía en los alimentos es esencial para estimar los nutrientes disponibles en cada dieta. En la Figura 2, se muestran los niveles de utilización de la energía en los bovinos.



**Figura 2.-** Niveles de utilización de la energía en los animales. Modificada de la NRC (2016).

Investigaciones de Castro et al. (2007), encontraron que novillos con RFI bajo consumieron 12% menos energía metabolizable ( $0.206 \text{ Mcal ME/kg BW}^{0.75} \text{ d}^{-1}$ ), que los bovinos con RFI alto con ( $0.234 \text{ Mcal ME/kg BW}^{0.75} \text{ d}^{-1}$ ), y sugirieron que el RFI está correlacionado positivamente con la cantidad de energía metabolizable para el mantenimiento. Concluyeron que los animales con RFI bajo, utilizan menos energía en los procesos fisiológicos encargados del mantenimiento, lo que resulta en que dispongan de mayor cantidad de energía neta para el crecimiento de tejidos.

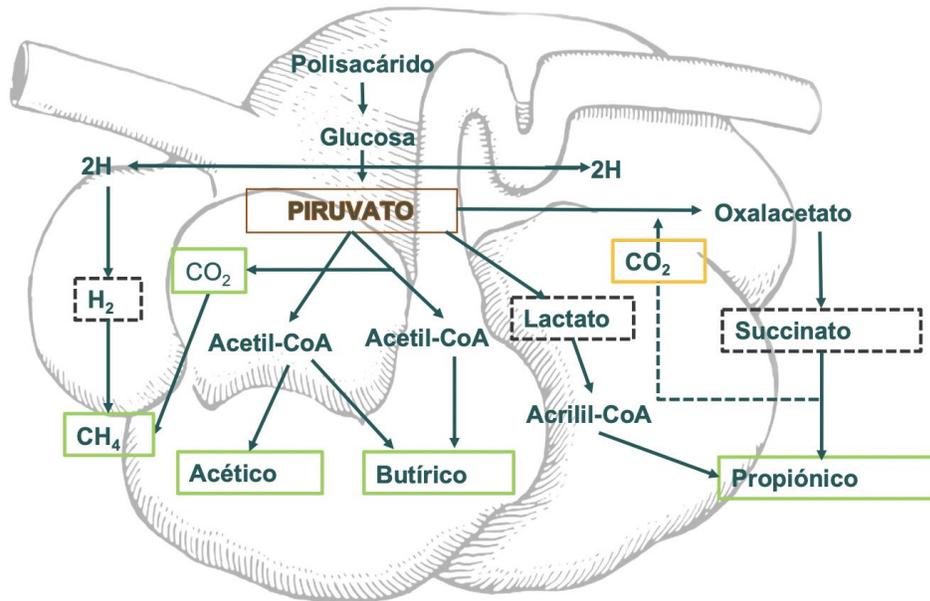
Actualmente se buscan alternativas para mitigar la producción de metano ligado al proceso de metanogénesis ruminal y su impacto en el efecto invernadero (Crosson et al., 2011). Por otro lado, Gomes et al. (2013), propusieron que al seleccionar ganado con RFI bajo se reduciría la pérdida de energía en la dieta en forma de  $\text{CH}_4$ , ayudando esto a mejorar la utilización de la energía consumida por los animales. También, Kenny et al. (2018), determinaron efectos

significativos de reducción de las emisiones de CH<sub>4</sub> hacia la atmósfera en bovinos con bajo RFI, lo cual redundaría en un menor impacto negativo de la ganadería por emisiones de gas.

## **2.6 Ácidos grasos volátiles**

En el rumen de los bovinos, la compleja microflora ahí presente consiste en bacterias, protozoarios, hongos y arqueas (Ramírez-Lozano, 2009). Estos microorganismos ruminales llevan a cabo la digestión de los alimentos que consume el rumiante y a partir de los carbohidratos complejos (estructurales y de reserva) que contienen las plantas de la dieta de los rumiantes, producen ácidos grasos volátiles (principalmente acético, propiónico y butírico), los cuales sirven como fuente de energía para los mismos microorganismos ruminales, pero también para los bovinos que absorben una parte importante de esos ácidos grasos volátiles producidos en el rumen, a través de las pailas ruminales presentes sobre todo en gran cantidad en la pared interna del saco ventral del rumen (Figura 3).

Fitzsimons *et al.* (2013), reportaron tendencias de un mayor porcentaje de ácido propiónico (18.2 vs 14.1%;  $P=0.10$ ) y de una menor relación acetato:propionato (3.5 vs 4.6;  $P=0.07$ ) en el rumen de vaquillas con RFI bajo, que con RFI alto, en condiciones de valores similares de producción de AGVs totales determinadas alimentando una dieta a base de ensilado de hierba (Cuadro 2).



**Figura 3.** Metabolismo de carbohidratos en rumiantes. Basado en Ramírez-Lozano (2009).

En cambio, las investigaciones de Lawrence *et al.* (2013) y Fitzsimons *et al.* (2014a), no arrojaron diferencias significativas con relación a la proporción de acético:propiónico en vacas de RFI bajo y alto alimentadas con una dieta basada en ensilado de hierba (Cuadro 3).

**Cuadro 2.** Proporción de AGVs (acético, propiónico y butírico) perteneciente a cada grupo de animales de RFI divergente, utilizando una misma dieta.

Estudio	Animal	Dieta	Grupo RFI	Acético	Propiónico	Butírico
Lawrence <i>et al.</i> (2013)	Vacas	Alta en Forraje	Alto	613	241	109
			Bajo	609	246	105
Fitzsimons <i>et al.</i> (2013)	Vaquillas	Alta en Forraje	Alto	623	141	204
			Bajo	625	182	161
Fitzsimons <i>et al.</i> (2014a)	Vacas	Alta en Forraje	Alto	680	166	103
			Bajo	674	165	104

Fitzsimons *et al.* (2014b), evaluaron si una dieta alta en concentrado tendría efecto sobre la proporción de ácido acético y ácido propiónico en toros con RFI divergente, y no observaron diferencias significativas en estos parámetros (Cuadro 3).

Lancaster *et al.* (2014), determinaron que en hepatocitos de bovinos con RFI bajo existe mayor presencia de sistemas enzimáticos aceptores de protones, indicadores de la tasa respiratoria dentro de la mitocondria.

**Cuadro 3.** Proporción de AGVs acético, propiónico y butírico perteneciente a cada grupo de animales de RFI divergente utilizando diferente dieta (alta en concentrado y alta en forraje).

Estudio	Animal	Dieta	Grupo RFI	Acético	Propiónico	Butírico
Fitzsimons <i>et al.</i> (2013)	Vaquillas	Alta en Forraje	Alto	623	141	204
			Bajo	625	182	161
Fitzsimons <i>et al.</i> (2014b)	Toros	Alta en concentrado	Alto	519	305	125
			Bajo	540	275	139

Ramos y Kerley (2013), encontraron mayor presencia de complejo mitocondrial en linfocitos de novillos con RFI bajo, que en aquellos con RFI alto, lo que sugiere una mayor producción de ATP en bovinos con eficiente utilización de alimento.

## **2.7 JUSTIFICACIÓN**

La creciente demanda de carne de bovino para consumo humano hace necesario buscar nuevas técnicas de mejoramiento y eficiencia en la producción en el ganado de engorda. La selección de rumiantes con un RFI bajo puede ser considerado como un camino para reducir costos de alimentación.

En este sentido, se plantea la necesidad de explorar si existe una relación entre aspectos de la fermentación ruminal y la producción de gas, con respecto al inóculo ruminal proveniente de bovinos con RFI diferente.

La proporción en porcentaje (%) de los diferentes ácidos grasos volátiles (AGVs) podría aportar información acerca de la relación que existe en la producción de CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>, con respecto a diferentes dietas al incubarlas con el inóculo proveniente de bovinos con RFI diferente.

## **2.8. OBJETIVOS**

### **2.8.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar la producción de gas y de ácidos grasos volátiles a partir de alimentos incubados *in vitro* con líquido ruminal de bovinos con diferente RFI.

### **2.8.2 Objetivos específicos**

1. Determinar la producción de gas, digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y el contenido de energía metabolizable de dos tipos contrastantes de dieta, incubadas con líquido ruminal proveniente de bovinos con RFI contrastante.
2. Determinar la producción de ácidos grasos volátiles en dos dietas con diferente proporción de forraje y concentrado, incubadas en líquido ruminal proveniente de bovinos con RFI contrastante.

3. Conocer las diferencias que existen entre las proporciones de los ácidos grasos acético, propiónico y butírico de dos dietas incubada con inóculo proveniente de bovinos con RFI contrastante.

## **2.9 HIPÓTESIS**

La producción de gas *in vitro*, digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y la energía metabolizable de dos tipos de alimentos incubados con inóculo ruminal proveniente de bovinos con RFI bajo serán mayores a los resultados obtenidos al incubarlos con líquido ruminal proveniente de bovinos con RFI alto.

La proporción de ácidos grasos volátiles de los alimentos incubados *in vitro* con inóculo ruminal de animales con RFI bajo será diferente a la obtenida al incubarlos con líquido ruminal de bovinos con RFI alto.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Evaluación para la clasificación de Consumo Residual de Alimento

Se realizó un aprueba de alimentación, con 68 bovinos raza Simmental, con edades de  $239\pm 18$  días, pesando  $267\pm 60$  kg, estos fueron alojados en el Centro de Investigación en Producción Agropecuaria (CIPA) de la UANL, ubicado en el km 145, de la Carretera Nacional Cd. Victoria - Monterrey, en el municipio de Linares, Nuevo León. La cual tenía como objetivo evaluar el consumo individual de alimento en una prueba de alimentación de 77 días de duración. Al inicio (09 de marzo 2022) y al final (25 de mayo 2022) de la prueba se registraron los pesos (kg) de cada animal, utilizando una báscula (Marca Revuelta®, Modelo RGI-15C-DV, México) de capacidad de 1,500 kg y con división mínima de 250 g.

El alimento utilizado en esta prueba de alimentación fue elaborado en la planta de alimentos del referido Centro de Investigación, la cual consistió en una dieta a base de grano de sorgo molido, harina de soya, granos secos de destilería, heno de pasto melaza y una mezcla de minerales y vitaminas, para tener 12.9% de proteína cruda, 3.4% de grasa cruda, 8.5% de fibra cruda, 1.7 Mcal ENm/kg y 1.15 Mcal Eng/kg. El alimento se ofreció *ad libitum* en comederos automáticos equipados con el sistema GrowSafe® (GrowSafe System, Airdrie, Alberta, Canadá), para registrar diariamente el consumo individual de alimento de animales alojados en corrales grupales (Meyer *et al.*, 2008; Mendes *et al.*, 2011; Fitzsimons *et al.*, 2014b).

Los resultados obtenidos de esta prueba de alimentación fueron utilizados para establecer la relación entre el consumo de alimento y el aumento de peso diario del grupo de animales. Con esta relación se estimó el consumo de alimento que se esperaba que tuviera cada animal, a partir de su aumento de peso promedio. La ingesta real de alimento determinada para cada animal en la prueba de alimentación se comparó con la ingesta esperada de alimento, y el resultado correspondió al RFI individual, tal y como lo describieron Sainz y Paulino (2004).

De entre los 68 bovinos de raza Simmental que participaron en la prueba de alimentación descrita en el capítulo 4.1, se eligieron los 8 bovinos con medidas de RFI más contrastantes. Cuatro de ellos correspondieron al grupo del RFI más Alto y los otros 4 animales tuvieron un RFI Bajo.

### **3.2 Obtención de líquido ruminal**

De cada uno de estos 8 animales seleccionados de la prueba de alimentación, se obtuvieron 1000 mL de inóculo ruminal. La colecta del líquido ruminal en el presente estudio fue realizada por un Médico Veterinario Zootecnista capacitado para ello, empleando una sonda oro-esofágica (Selekt, Nimrod Veterinary Products, UK), en procedimiento propuesto por Dirksen y Smith (1986), así como por Martin *et al.* (2005). El protocolo de colecta del líquido ruminal para el presente estudio fue aprobado por el Comité de Bioseguridad e Higiene de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UANL .

El inóculo ruminal obtenido de cada animal fue purgado con CO<sub>2</sub> para mantener las condiciones de anaerobiosis, y conservado en vasos con sellado hermético a una temperatura de 39°C, para su posterior utilización en la incubación de alimentos en líquido ruminal *in vitro*.

### **3.3 Preparación de dietas experimentales**

Se elaboraron dos dietas experimentales para ser utilizadas en las incubaciones *in vitro*.

Dieta 1: 80% de concentrado y 20% de forraje.

Dieta 2: 20% de concentrado y 80% de forraje.

El concentrado utilizado consistió en 42% harina de soya y 58% sorgo. El forraje utilizado fue una mezcla con 50% heno de zacate Bermuda (*Cynodon dactylon*

L.) y 50% heno de zacate Johnson (*Sorghum halepense* (L.) Pers.). Estos ingredientes se molieron para alcanzar un tamaño de partícula de 1 mm, y para la elaboración de cada dieta fueron mezclados en sus debidas proporciones durante 5 minutos en una mezcladora de paletas (Lödige, D-479 Paderborn W., Germany) para obtener una mezcla homogénea.

### **3.4 Análisis Bromatológicos de las dietas experimentales**

Los análisis de laboratorio del presente estudio se realizaron en el Laboratorio de Nutrición y Calidad de Alimentos en la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Del 5 de septiembre hasta el 7 de octubre de 2022 se realizaron los análisis bromatológicos (AOAC, 2005) por duplicado, para obtener la calidad de las dietas experimentales. Los métodos utilizados para cada uno de los análisis realizados se describen brevemente a continuación.

Materia seca: (AOAC 930.15): El método se basa en la determinación gravimétrica de la pérdida de humedad, para ello, la muestra se deseca a 105°C en una estufa de aire forzado (Yamato Scientific America Inc., Japan), de 4 a 8 h, o hasta alcanzar peso constante. El peso (g) resultante después del secado es el valor de la materia seca (MS) de la muestra.

Cenizas: (método 942.05; AOAC): El contenido en porcentaje (%) de cenizas se estableció como el residuo resultante después de incinerar una muestra de alimento a 550°C utilizando una mufla marca Lindberg (Thermo Scientific®, Waltham, MA) por un periodo de 4 horas.

Grasa: (método 920.39; AOAC): Se cuantificó en porcentaje (%) del extracto etéreo contenido en las muestras de alimento, por diferencia gravimétrica al extraer los triacilglicéridos, de las muestras, empleando 350 mL de éter de petróleo por cada carga de 10 muestras analizadas, en proceso de extracción de 40 min, utilizando el Extractor de grasa ANKOM XT10 (ANKOM Technology, Macedon, NY).

Proteína: El contenido de proteína cruda fue determinado por el método Kjeldahl, para ello se tomó aproximadamente 1 g de dieta (exactitud de 0.1 mg) de cada muestra de dieta experimental. Se utilizó un bloque de digestión para digerir el nitrógeno de la muestra con 30 mL de ácido sulfúrico (98 % de concentración) y 10 g de mezcla catalizadora (3% CuSO<sub>4</sub>, 97% K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a una temperatura de 400°C. En la fase de destilación se emplearon 100 mL de hidróxido de sodio (NaOH) al 40% ; el nitrógeno liberado en la combustión de la muestra, y fue colectado matraces Erlenmeyer de 250 mL que i contenían 100 mL de ácido bórico (4 %) con indicador rojo de metilo: verde de bromocresol. En la fase de titulación se realizó empleando ácido clorhídrico (0.1 N) a razón necesaria para obtener el vire de solución color verde a gris claro en el matraz Erlenmeyer.

El contenido total de nitrógeno de una muestra analizada se calculará a través de una formula que incorpora el gasto de ácido clorhídrico, y utilizando un factor de conversión de 6.25 se calcula el contenido de proteína cruda en los alimentos pecuarios (Navarro y Roa, 2020).

Fracciones de fibra: Los contenidos de fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) se determinaron usando la metodología de Van Soest et al. (1991) incluyendo los procedimientos, consumibles y reactivos y el analizador de fibra ANKOM 2000 (ANKOM Technology, Macedon, NY, USA). El método de lignina detergente ácido fue utilizado para determinar el contenido de lignina por el método descrito por Ramírez (2007). Los contenidos de hemicelulosa (FDN-FDA) y celulosa (FDA-Lignina) se calcularon como fue descrito por Dryden (2008) por diferencia.

### **3.5 Producción de gas *in vitro***

Las incubaciones en líquido ruminal de los 8 bovinos de RFI contrastante para determinar la producción de gas *in vitro* de las dos dietas experimentales, se realizaron del 24 al 28 de agosto 2022 en el Laboratorio de Química de la Facultad de Ciencias Forestales de la UANL, utilizando la metodología descrita por Menke y Steingass (1988).

Para ello, se utilizaron las jeringas de vidrio de 100 mL de capacidad, calibradas con graduación de división mínima de 1 mL, se incubaron 200 mg (exactitud de pesado = 0.1 mg) de las dietas a analizar, y se añadieron 30 mL de una mezcla 2:1 (v/v), consistente en dos partes de saliva artificial, elaborada a base de bicarbonato de amonio, bicarbonato de sodio, y solución nutritiva de macrominerales y minerales traza (McDougall 1948), y una parte del correspondiente inóculo ruminal.

Las jeringas fueron colocadas en una incubadora Binder® (Binder, WTC 7200, Tuttlingen, Germany) con espacio de 56 jeringas a una temperatura de 39°C, para registrar la producción de gas resultante a las 0, 3, 6, 9, 12 y 24 horas.

Al terminar la incubación y haber registrado la producción de gas, se colectaron 15 mL de las muestras incubadas y se depositaron en tubos Falcón de 15 mL de capacidad, cubriéndolas con papel aluminio para mantener total obscuridad y se almacenaron a una temperatura de 4°C, para detener la actividad de los microbios ruminales, para su análisis (Wang *et al.*, 2020) posterior del contenido (%) de ácidos grasos volátiles (ver sección 3.7).

### **3.6 Digestibilidad *in vitro* de la Materia Orgánica y contenido de Energía metabolizable de las dietas experimentales evaluadas**

Para calcular la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) y el contenido de energía metabolizable (EM) de las dietas experimentales a evaluar, se utilizaron los resultados de producción de gas (mL/200 mg) obtenidos a las 24 h en las incubaciones de dietas en líquido ruminal *in vitro*, así como los resultados obtenidos en los análisis bromatológicos para determinar el contenido de proteína cruda, grasa cruda y cenizas, utilizando las ecuaciones propuestas por Menke y Steingass (1988).

EM dieta Alta en concentrado (MJ/kg MS) =  $1.06 + 0.157 PG + 0.084 PC + 0.22 EE - 0.081Cen$

EM dieta Alta en forraje (MJ/kg MS) =  $2.20 + 0.136 PG + 0.057 PC + 0.0029 EE^2$

DIVMO (%) =  $[0.889(PG_{24h}) + 0.448(PC) + 0.651(Cen) + 14.88]$

Donde:

PG = Producción de gas a las 24 h (mL/200 mg MS)

PC = Proteína Cruda (g/kg MS)

EE = Extracto Etéreo (g/kg MS)

Cen = Cenizas (g/kg MS)

DIVMO= Digestibilidad in vitro de la materia orgánica (%)

### 3.7 Concentración de AGVs

Para realizar el análisis de ácidos grasos volátiles (AGVs) se trabajó en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería Civil de la UANL en el período del 1 de febrero al 17 de marzo de 2023.

Las muestras de dietas postincubación en el inóculo de líquido ruminal y saliva artificial resguardadas en tubos Falcón cubiertos con papel aluminio (ver sección 3.5), se centrifugaron a 1,500 rpm durante 15 min, concentrando las partículas sólidas en la parte inferior. Utilizando jeringas estériles desechables de 5 mL, se tomaron 2 mL de la muestra líquida del sobrenadante, para obtener un filtrado limpio utilizando un filtro de jeringa Whatman Uniflo™ Syringe Filter con poros de 0.45 µm con membrana PVDF (fluoruro de polivinilideno). La muestra ya filtrada se depositó en viales Eppendorf de 2 mL, conservando en refrigeración a 4°C. De estas muestras, se tomaron posteriormente 1.2 mL en viales de 1.5 mL, y 0.3 mL de ácido metafosfórico (al 25% de HPO<sub>3</sub>). Estos viales fueron sellados con

un tapón de aluminio con septa de goma, utilizando una pinza (Manual Crimper, 11mm, Agilent Technologies, USA).

Para determinar la composición de los ácidos grasos volátiles en las muestras, se utilizó un cromatógrafo de gases (CG) de la marca Agilent Technologies® modelo 7820A, que cuenta un detector de ionización de flama (FID) (Erwin *et al.*, 1961) y una columna HP-INOWAX. Se utilizó Argón como gas transportador. Para el horno se implementó una rampa de calentamiento desde 70°C a 180°C a una velocidad de calentamiento de 10°C·min<sup>-1</sup>. La temperatura del inyector se estableció a 250°C y la temperatura del analizador se ajustó a 250°C.

Se realizaron las curvas de calibración para el análisis de los AGVs en cromatografía de gases, utilizando un estándar de Sigma Aldrich® de los ácidos orgánicos acético, propiónico y butírico; utilizando unidades de 0.75 µL, 1.5 µL, 3.0 µL y 6.0 µL.

Las proporciones se calcularon a partir de las concentraciones molares de los tres ácidos grasos principales acético, propiónico y butírico (Wang *et al.*, 2020).

### **3.8 Análisis Estadístico**

Los resultados de los análisis de PGIV, EM, DIVMO y AGVs correspondientes a cada inóculo ruminal de bovinos (RFI Alto (n=4) y RFI Bajo (n=4)) evaluados, así como a cada uno de los dos tipos de dietas experimentales (Dieta 1, con 80% de Concentrado y 20% de Forraje, y Dieta 2 con 20% de concentrado y 80% de Forraje, fueron evaluados de acuerdo a un diseño experimental completamente aleatorio, con un arreglo factorial 2 (Factor A: 2 dietas) x 2 Condiciones (Factor B; 2 condiciones de RFI).

Se tuvieron tres repeticiones, 3 Jeringas de incubación para cada combinación de tratamientos; es decir, que por cada tipo de alimento se tuvieron n=9 incubaciones. En total se tuvieron n=108 Incubaciones. Para el análisis de la

varianza (ANDEVA), se utilizó el paquete estadístico IBM SPSS Statistics versión 25 (IBM Corp., Armonk, NY, USA), de acuerdo a lo descrito por Sharma *et al.* (2014), Shui *et al.* (2023) y Sun *et al.* (2023). En el caso de diferencias estadísticas registradas en ANDEVA se realizó una comparación de medias con un nivel de significancia  $P < 0.05$  por la prueba de Tukey.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Prueba de alimentación para evaluar y clasificar los bovinos de acuerdo a su Consumo Residual de Alimento (RFI)

De los 68 bovinos Simmental que participaron en la prueba de alimentación para registrar sus datos individuales de peso, aumento de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia (F:G), se evaluaron sus resultados y se hicieron los cálculos como se describió en la sección 3.1, para conocer su RFI.

De esos animales, se seleccionaron ocho bovinos, de los cuales, cuatro obtuvieron los datos más altos de RFI (+2.03 a +0.70) y 4 obtuvieron los valores más bajos de RFI (-1.33 a -0.34). En el Cuadro 4 se presentan los datos promedios correspondientes a los dos grupos de esos animales, para cada una de las variables productivas antes mencionadas.

**Cuadro 4.** Promedios  $\pm$  Desv. Std., de los valores de RFI, peso inicial, peso final, ganancia de peso, la ingesta de materia seca y su conversión alimenticia (F:G) en los bovinos seleccionados con RFI Bajo (n=4) y con RFI Alto (n=4).

RFI	RFI	PESO INICIAL (kg)	PESO FINAL (kg)	ADP (kg/día)	CMS (kg/día)	F:G
<b>BAJO</b>	-0.87 $\pm$ 0.44b	281.5 $\pm$ 20.37	409.7 $\pm$ 28.50	1.67 $\pm$ 0.15	8.24 $\pm$ 0.68b	4.95 $\pm$ 0.10b
<b>ALTO</b>	+1.23 $\pm$ 0.58a	270.5 $\pm$ 22.71	391.5 $\pm$ 16.18	1.57 $\pm$ 0.12	9.99 $\pm$ 0.79a	6.39 $\pm$ 0.85a

ADP: Aumento de peso diario;

CMS: Consumo de materia seca;

F:G: Conversión alimenticia (consumo de alimento:ganancia de peso)

a,b Letras diferentes en columna indican diferencias significativas a  $P < 0.01$

El valor de RFI de los bovinos seleccionados para ser donadores de inóculo en el grupo de RFI alto en la presente investigación (+1.23, Cuadro 4), fue significativamente mayor ( $P < 0.01$ ) al RFI de los animales con RFI Bajo (-0.87).

Los animales con RFI Alto seleccionados para ser donadores de inóculo en la presente investigación tuvieron en la prueba de alimentación pesos inicial y final similares ( $P > 0.05$ ) a los animales con RFI Bajo.

El consumo de alimento de los animales con RFI alto fue en promedio 1.75 kg/día de materia seca, mayor ( $P = 0.016$ ) que para los bovinos con RFI bajo. El Aumento de peso de los animales con RFI Bajo fue similar ( $P = 0.387$ ) al de los bovinos con RFI Alto. La conversión alimenticia (expresada como la relación de F:G) fue más favorable (mejor) ( $P = 0.015$ ) para los cuatro bovinos con RFI Bajo, que para los bovinos con RFI Alto seleccionados para la presente investigación.

#### 4.2 Valor nutritivo de las dietas experimentales

La Dieta 1 (80C:20F) tuvo composición química contrastante con la Dieta 2 (20C:80F), ya que su contenido de proteína cruda (23.47%, base MS) fue mayor ( $P < 0.01$ ) al de la Dieta 2 (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Valor nutritivo (  $n=3$ ) de las dietas experimentales.

Parámetro (% MS)	Dietas Experimentales			
	Dieta 1 (80C:20F)	Dieta 2 (20C:80F)	EEM	Valor <i>P</i>
Cenizas (%)	7.34b	10.51a	0.039	0.001
Proteína Cruda (PC, %)	23.47a	14.22b	0.132	0.001
Extracto Etéreo (EE, %)	1.58b	1.83a	0.033	0.001
Fibra Detergente Neutro (FDN, %)	33.03b	60.24a	0.152	0.001
Fibra Detergente Ácido (FDA, %)	17.24b	35.89a	0.096	0.001
Lignina (LAD, %)	1.42b	1.62a	0.006	0.001
Hemicelulosa (HC, %)	15.79b	24.35a	0.095	0.001
Celulosa (Cel, %)	15.82b	34.27a	0.095	0.001

Dieta 1: Alta en concentrado; Dieta 2: Alta en forraje.

EEM: error estándar de la media.  $P < 0.05$ : diferencia significativa.

a, b: Letras diferentes en hileras representan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Todos los valores de los demás componentes nutricionales (ceniza, grasa, FDN, FDA, lignina, hemicelulosa y celulosa), de la Dieta 2 fueron mayores a los de la Dieta 1 ( $P < 0.01$ ).

### 4.3 Producción de gas *in vitro*

Los resultados del análisis de varianza (Cuadro 6) indicaron que no se detectaron interacciones significativas Dieta x RFI del líquido ruminal para las 3 variables medidas (PGIV, EM y DIVMO; Cuadro 6), por lo que se describen los efectos de los factores principales.

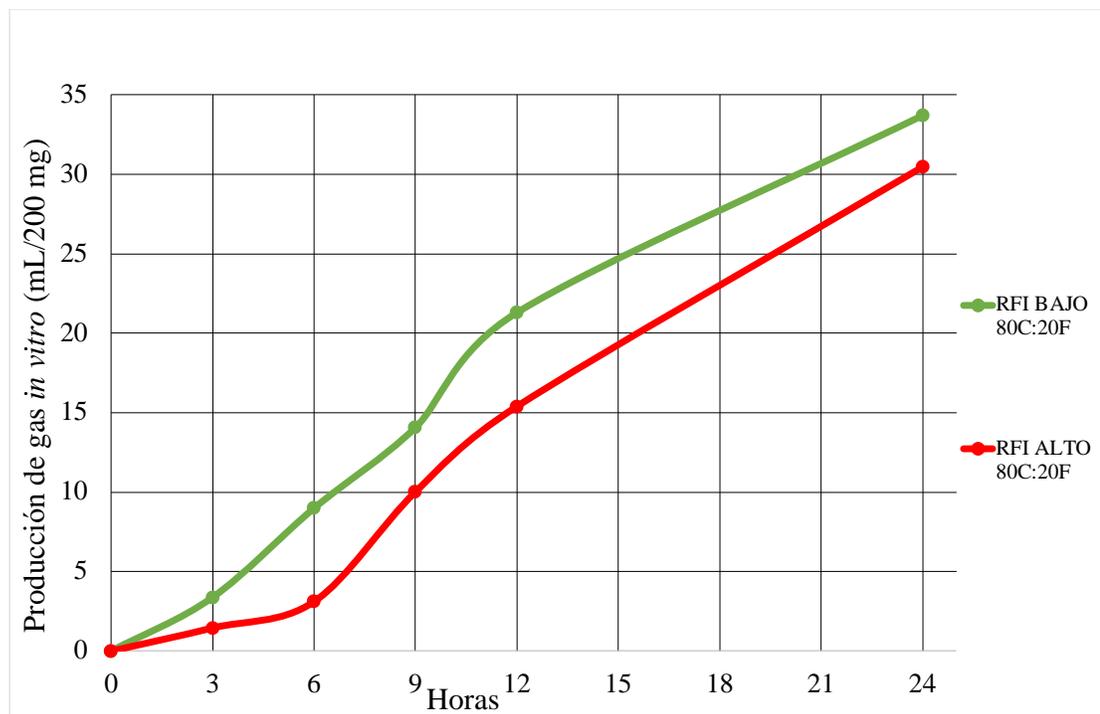
**Cuadro 6.** Resumen del análisis de la varianza de acuerdo a un diseño experimental completamente aleatorio con arreglo factorial para los parámetros de Producción de gas a las 24 h (mL/200 mg), EM (Mcal/kg) y DIVMO (%) de dos dietas (n= 16 por dieta) evaluadas con inóculo ruminal de bovinos con RFI Alto y RFI Bajo (n= 16 por tipo de inóculo).

Parámetro	Fuente de Variación		
	Factor A Dieta Dieta1 (80C:20F) Dieta2 (20C:80F)	Factor B RFI RFI Bajo RFI Alto	Interacción (Factor A* Factor B)
PGIV (ml/200mg)	Dieta 1: 32.10 <sup>a</sup> Dieta 2: 11.97 <sup>b</sup>	RFI Bajo: 24.98 <sup>a</sup> RFI Alto: 19.09 <sup>b</sup>	
Cuadrado Medio	3243.21	277.47	56.00
Valor F	57.62	4.93	0.99
Valor P	0.001	0.035	0.327
EM (Mcal/kg)	Dieta 1: 1.870 <sup>a</sup> Dieta 2: 1.111 <sup>b</sup>	RFI Bajo: 1.590 <sup>a</sup> RFI Alto: 1.391 <sup>b</sup>	
Cuadrado Medio	4.61	0.319	0.048
Valor F	67.50	4.66	0.71
Valor P	0.001	0.040	0.407
DIVMO (% MS)	Dieta 1: 58.71 <sup>a</sup> Dieta 2: 38.73 <sup>b</sup>	RFI Bajo: 51.34 <sup>a</sup> RFI Alto: 46.10 <sup>b</sup>	
Cuadrado Medio	3193.61	219.28	44.25
Valor F	72.13	4.95	1.00
Valor P	0.001	0.034	0.326

<sup>a,b</sup> Letras diferentes en columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) de acuerdo a la prueba de Tukey.

La producción de gas de la Dieta 1 (80C:20F) fue mayor ( $P<0.01$ ) a la registrada para la Dieta 2 (20C:80F). También la producción de gas en jeringas con inóculo de bovinos con RFI bajo fue mayor ( $P=0.035$ ) a la obtenida con inóculo de bovinos de RFI Alto (Cuadro 6).

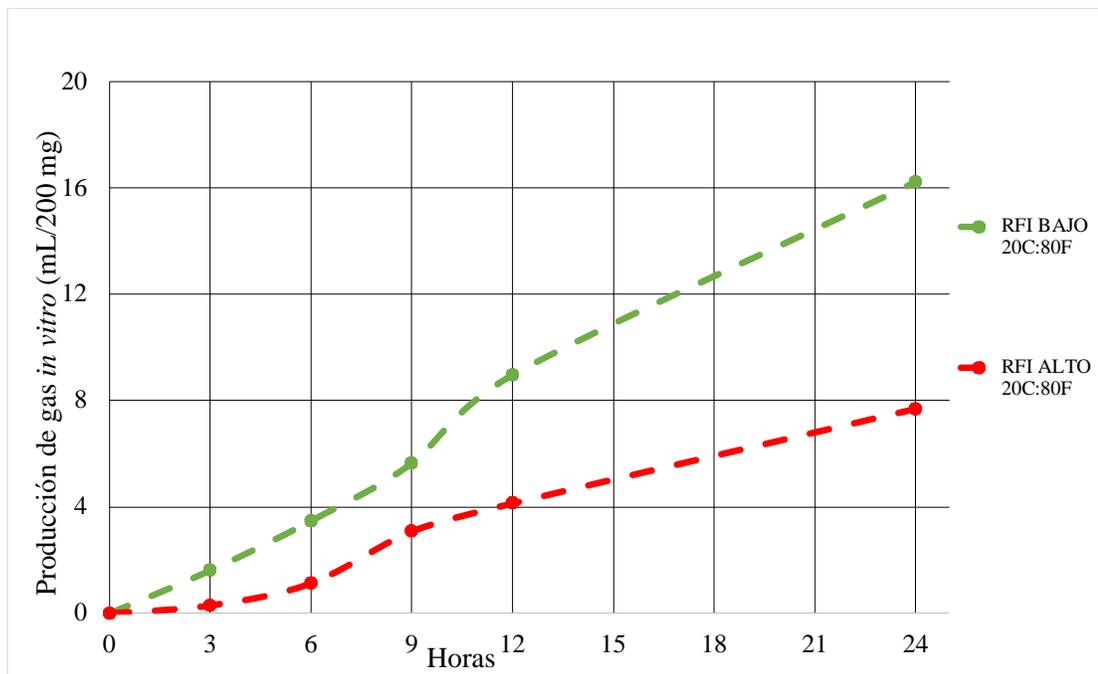
Los valores promedio de producción de gas *in vitro* (mL/200 mg de muestra) a las 3, 6, 9, 12 y 24 horas, correspondientes a la incubación de la dieta 1 (con alto contenido de concentrado) se muestran en la Figura 4. Las incubaciones con inóculo ruminal de bovinos con RFI bajo se muestran con línea verde y la producción de gas *in vitro* con inóculo de bovinos con RFI Alto se muestran con línea roja.



**Figura 4.** Valores promedio de producción de gas *in vitro* (mL/200mg) al incubar la dieta alta en concentrado (80C:20F) con el inóculo ruminal de animales con RFI Bajo (línea color verde) y animales con RFI Alto (línea color rojo).

Se detectaron diferencias significativas de producción de gas a las 3 ( $P=0.030$ ), 6 ( $P=0.003$ ), 12 ( $P=0.007$ ) y 24 horas de incubación ( $P=0.035$ ) con mayor producción de gas en bovinos con RFI Bajo. En cambio, la producción de gas a las 9 horas fue similar ( $P>0.05$ ) para los animales con RFI Alto y RFI Bajo.

Los valores promedio de la producción de gas *in vitro* a las 3, 6, 9, 12 y 24 horas de la dieta 2, alta en forraje (20C:80F), incubada con líquido ruminal de bovinos con RFI Alto y RFI Bajo se muestra en la Figura 5.



**Figura 5.** Producción de gas *in vitro* (mL/200 mg) al incubar la dieta 2 alta en forraje (20C:80F) con líquido ruminal de bovinos con RFI Bajo (línea color verde) y bovinos con RFI Alto (línea color rojo).

La producción de gas *in vitro* (mL/200 mg) en la dieta con 20% de concentrado y 80% forraje registró una mayor producción de gas ( $P<0.05$ ) al utilizar inóculo proveniente de bovinos con RFI bajo, es decir animales con mejor eficiencia

alimenticia, a las 3, 6, 12 y 24 horas de incubación. Solamente las 9 horas de incubación los valores de producción de gas de los dos inóculos mostraron valores similares ( $P>0.05$ ) al ser incubadas con inóculo ruminal proveniente de bovinos con RFI alto o bajo (Figura 5).

#### **4.4 Digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y contenido de energía metabolizable de las dietas experimentales**

La digestibilidad de la materia orgánica y el contenido de energía metabolizable calculados a partir de la producción de gas *in vitro* y de los resultados de análisis bromatológicos de las dietas experimentales resultaron mayores ( $P<0.01$ ) para la dieta de 80% de Concentrado y 20% de forraje que para la dieta con alto contenido de forraje (Cuadro 6).

El porcentaje de DIVMO fue mayor ( $P=0.037$ ) en las muestras incubadas con líquido ruminal procedente de bovinos con RFI bajo, que los valores obtenidos al incubar las dietas con inóculo proveniente de bovinos con RFI alto, es decir los de menor eficiencia alimenticia. La interacción Dieta\*RFI fue no significativa ( $P>0.05$ ; Cuadro 6).

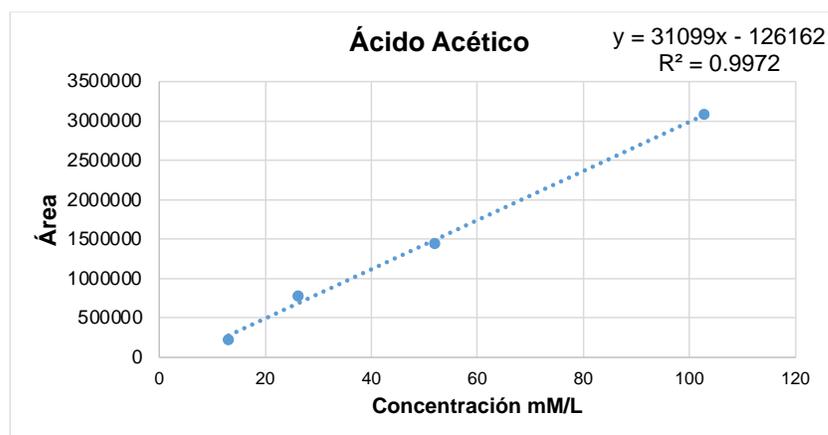
El contenido de energía metabolizable del alimento calculado a partir de la producción de gas *in vitro* a las 24 horas de incubación, fue mayor ( $P=0.040$ ) en los alimentos incubados con inóculo ruminal de bovinos con RFI bajo al obtenido a partir de la producción de gas *in vitro* de alimentos incubados con inóculo proveniente de bovinos con RFI alto (Cuadro 6).

Esto indica que en el presente estudio se detectaron efectos ( $P<0.05$ ) en los resultados de PGIV a las 24 horas, DIVMO y EM, al incubar alimentos con líquido ruminal de bovinos con RFI bajo y de bovinos con RFI alto.

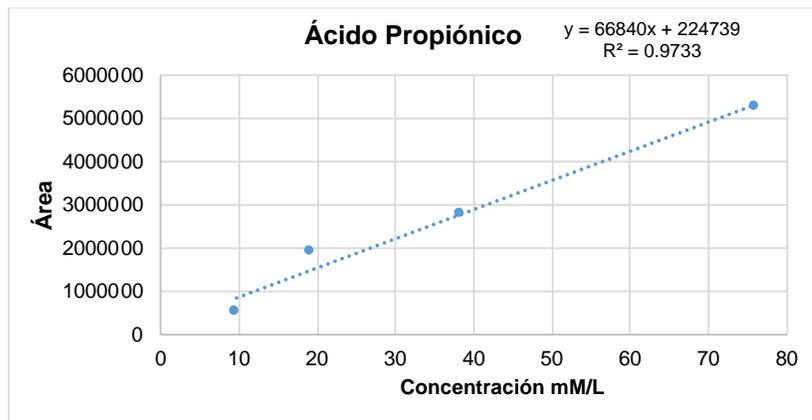
#### 4.5 Concentración de ácidos grasos volátiles

Para llevar a cabo el análisis de la concentración y proporción de los ácidos grasos volátiles utilizando el cromatógrafo de gases, primeramente se llevaron a cabo determinaciones de los estándares de los tres principales ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico).

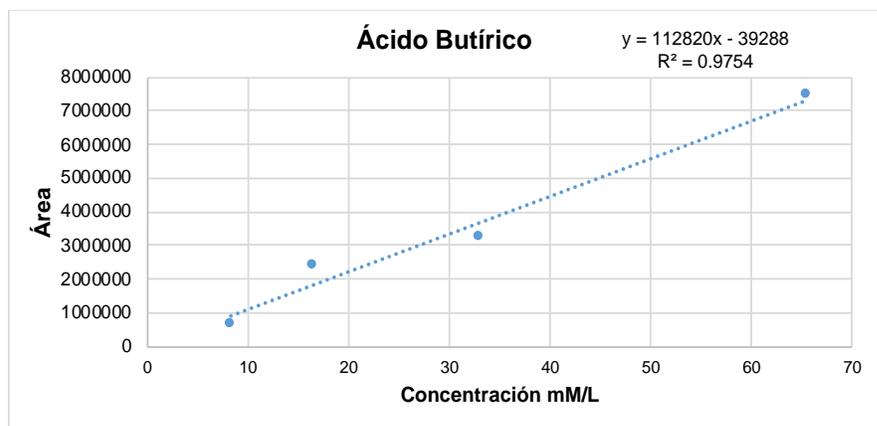
En las Figuras 6, 7 y 8 se representa gráficamente la relación existente entre el área bajo la curva de cada pico del cromatograma correspondiente a cada uno de los tres ácidos grasos volátiles determinados en el presente estudio. También se muestran las ecuaciones de regresión que se obtuvieron para posteriormente calcular la concentración de cada ácido graso a partir del área bajo la curva integrada de cada cromatograma obtenido para las muestras analizadas.



**Figura 6.** Curva estándar del ácido acético.

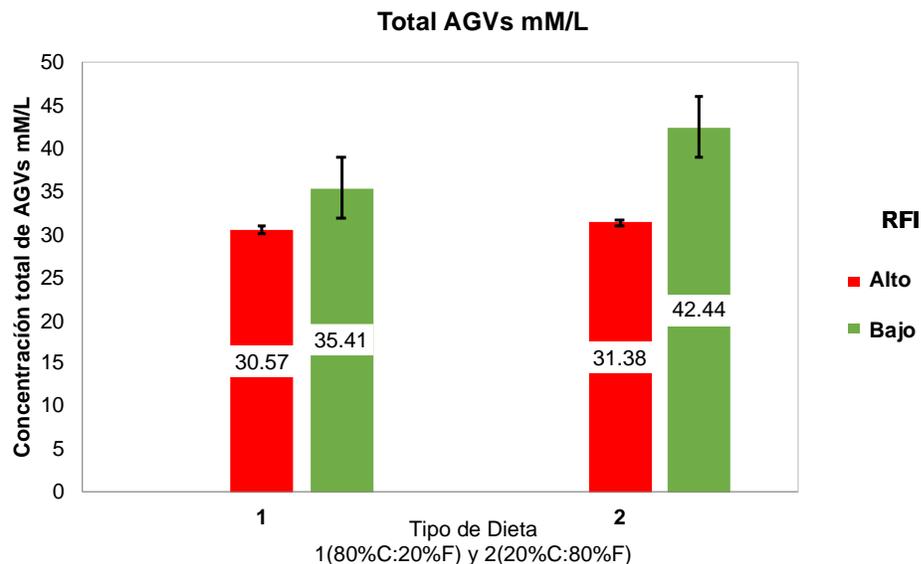


**Figura 7.** Curva estándar del ácido propiónico.



**Figura 8.** Curva estándar del ácido butírico.

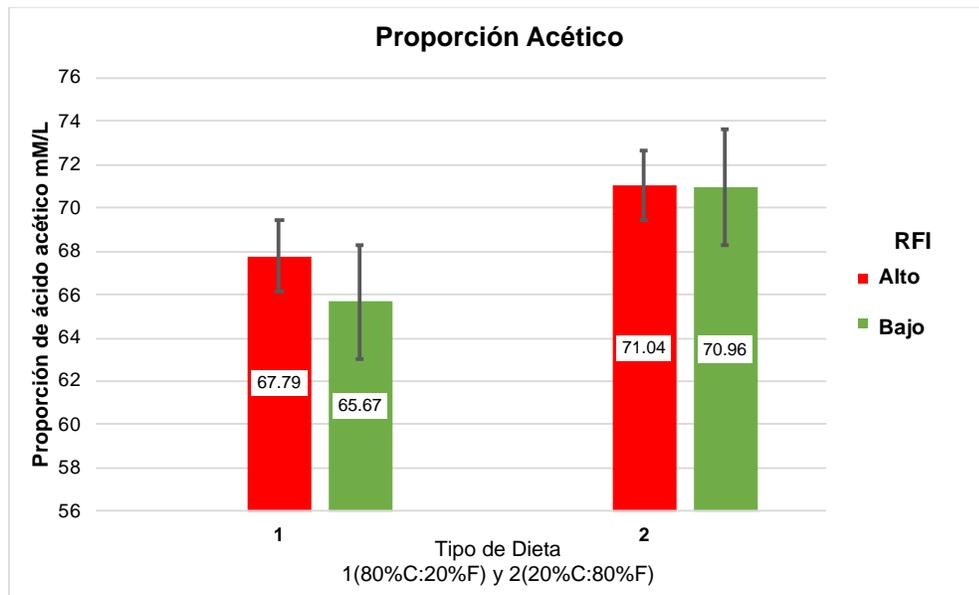
La concentración total de ácidos grasos volátiles fue numéricamente (no significativo) mayor en la dieta alta en forraje, que en la dieta alta en concentrado. Especialmente notoria fue la concentración alta de AGVs en el caso de los animales con RFI bajo alimentados con dieta alta en forraje (Figura 9).



**Figura 9.-** Concentración total promedio (n=4) de los ácidos grasos volátiles acético, propiónico y butírico, al incubar una dieta alta (1) en concentrado (80C:20F) y una dieta (2) alta en forraje (20C:80F) con inóculo ruminal de bovinos con RFI Alto (color rojo) y RFI Bajo (color verde).

#### 4.6 Proporciones de ácidos grasos volátiles

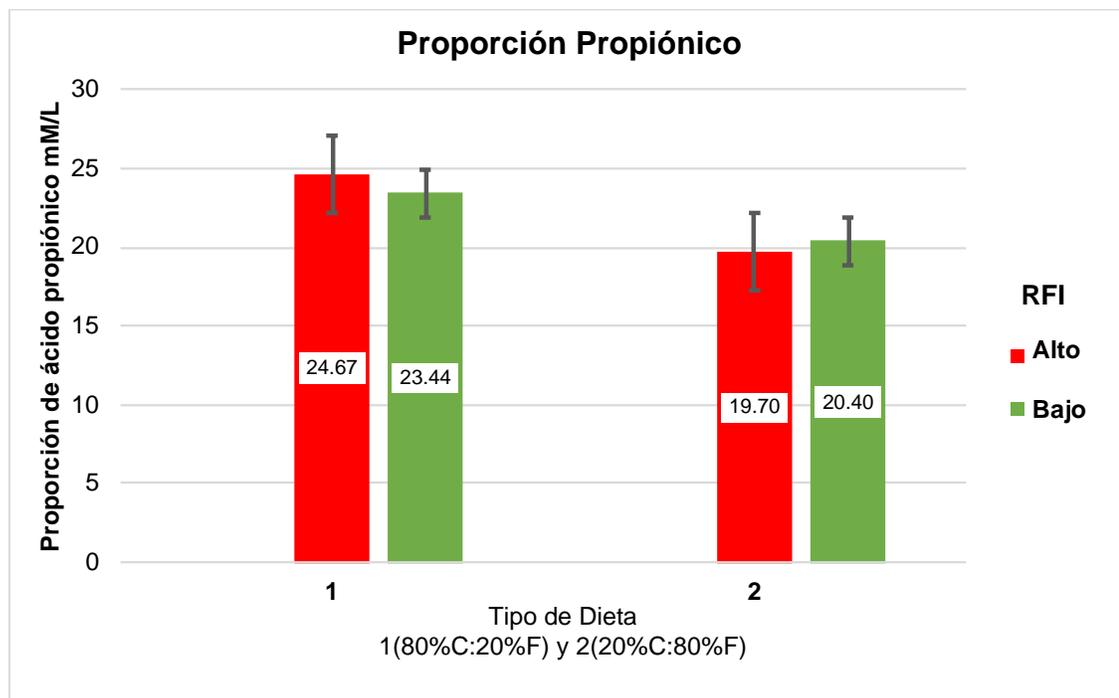
La proporción de ácido acético en la dieta alta en concentrado (80C:20F) fue menor ( $P=0.045$ ) a la registrada en la dieta alta en forraje (20C:80F), como se observa en la Figura 10.



**Figura 10.-** Proporción de ácido acético al incubar una dieta alta (1) en concentrado (80C:20F) y una dieta alta (2) en forraje (20C:80F) con inóculo ruminal de bovinos con RFI Alto (color rojo) y RFI Bajo (color verde).

En la Figura 10 también se observa que no se registró ningún efecto en la proporción del ácido acético relacionado con la procedencia del inóculo ruminal. Es decir, la proporción del ácido acético fue similar ( $P>0.05$ ) para ambas dietas experimentales evaluadas, si el inóculo ruminal provenía de bovinos con RFI Alto o RFI Bajo.

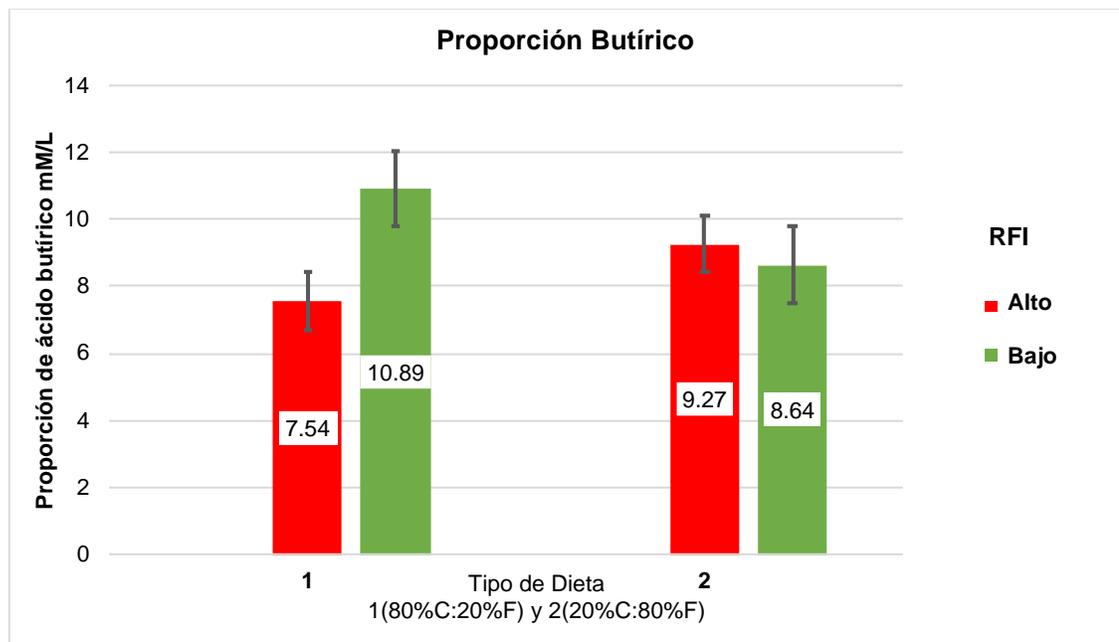
La proporción de ácido propiónico fue tendencialmente mayor ( $P=0.06$ ) en la dieta con alto porcentaje de concentrado (80C:20F), que en la dieta con alto contenido de forraje (Figura 11).



**Figura 11.-** Proporción de ácido propiónico al incubar una dieta alta (1) en concentrado (80C:20F) y una dieta (2) alta en forraje (20C:80F) con inóculo ruminal de bovinos con RFI Alto (color rojo) y RFI Bajo (color verde).

La procedencia del inóculo ruminal de bovinos con RFI Bajo o de bovinos con RFI Alto no mostró efecto significativo ( $P>0.05$ ) sobre la proporción de ácido propiónico de ambas dietas experimentales evaluadas. No se detectó interacción ( $P>0.05$ ) de efectos RFI x Dieta para el ácido propiónico (Figura 11).

Respecto a la proporción de ácido butírico, se encontró que no existe una interacción significativa ( $P=0.144$ ) DietaxRFI. También se determinó una proporción muy similar de ácido butírico al haber incubado las dos dietas experimentales utilizando el inóculo procedente de bovinos Simmental con RFI alto y RFI bajo (Figura 12).



**Figura 12.-** Proporción de ácido butírico al incubar una dieta alta (1) en concentrado (80C:20F) y una dieta alta (2) en forraje (20C:80F) con inóculo ruminal de bovinos con RFI Alto (color rojo) y RFI Bajo (color verde).

Los resultados de la proporción de ácido butírico fueron similares al utilizar una dieta alta en concentrado o una dieta alta en forraje ( $P=0.841$ ).

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1 Consumo Residual de Alimento

Los resultados de la prueba de alimentación indicaron una variación en la utilización de los piensos entre bovinos Simmental, de acuerdo a sus valores de RFI. Los bovinos con RFI Alto mostraron un consumo de MS (9.99 kg/día), que fue 1.75 kg de MS mayor al registrado en los bovinos con RFI Bajo. Estos resultados concuerdan con resultados reportados previamente por Fitzsimons *et al.* (2014a), McGree *et al.* (2014) y Bonilha *et al.* (2017), en bovinos de diferentes razas y condiciones fisiológicas, que registraron un consumo de materia seca (CMS) que fue hasta 20.10% mayor en bovinos con RFI Alto, al CMS registrado en los animales con RFI Bajo. De igual manera, Castro Bulle *et al.* (2007), demostraron que los animales con RFI bajo consumían menor cantidad de alimento sin que esto tuviera efecto sobre el peso vivo comparado con el peso de animales con RFI alto, por lo que los bovinos con RFI alto pueden ser descritos como ineficientes en la utilización de piensos. Lancaster *et al.* (2009), encontraron que bovinos con RFI alto consumían de un 17% a un 18% más de alimento que bovinos con RFI bajo.

Bonilha *et al.* (2017), encontraron que los bovinos Nellore de 398 kg de peso y con edad de 573 días, con RFI bajo (-0.266 kg/día) consumieron 0.661 kg/día menos que los bovinos con RFI alto (+0.395 kg/día) resultando una diferencia total en el consumo de alimento entre estos animales con RFI divergente. En el presente estudio, al someter bovinos Simmental más jóvenes se observó el mismo comportamiento coherente con el consumo de MS esperado y el real de acuerdo a su edad y peso.

Herd *et al.* (2003), reportaron que animales de RFI bajo (-0.20) tenían un CMS diario de 9.2 kg/día vs 9.8 kg/día para los animales con RFI alto (+0.17). También la conversión alimenticia (F:G) en estos novillos Angus, fue de 7.0 vs 7.6, lo cual resulta ser mucho más rentable animales con RFI bajo.

En un estudio realizado por Lancaster *et al.* (2014), los animales de RFI divergente (-0.71 vs 0.73) alimentados con una dieta alta en energía (2.85 Mcal/kg MS) y con 13.1% de PC, mostraron aumento de peso similar (1.22 kg/día) pero el CMS de los animales con RFI alto fue 15% mayor a los bovinos con RFI bajo. En cambio, cuando la dieta tuvo menor contenido de energía (2.21 Mcal/kg MS), el consumo de alimento de los animales con RFI alto fue 31% mayor al de los bovinos con RFI bajo, que también tuvieron un aumento de peso 16% menor que los en los animales con RFI bajo (Lancaster *et al.*, 2014). Los autores documentaron que la actividad mitocondrial fue similar en ganado con alto y bajo RFI.

Freetly *et al.* (2020), determinaron que la composición de la dieta durante la prueba de alimentación está estrechamente relacionada con la regulación de la saciedad en ganado de carne, reportando que dietas con alto contenido de energía están asociadas con señales químicas que brindan más saciedad, mientras que, en contraparte, dietas con alto contenido de forraje regulan el consumo por medio de señales de llenado intestinal. El centro regulador del apetito ocurre a nivel del hipotálamo, por lo que el estudio de transmisión de señales orexigénicas (promotoras del consumo) y anorexigénicas (limitadoras del consumo) a nivel hipotalámico, podría contribuir a la comprensión del proceso regulador del consumo, como parte de la variación en la eficiencia de utilización de nutrientes y energía de los piensos (Perkins *et al.*, 2014).

Por ejemplo, en tejido adiposo de novillos con RFI bajo Perkins *et al.* (2014), reportaron niveles de leptina hasta 245% más elevados que los de novillos con RFI alto, así como una mayor expresión de la hormona POMC (proopiomelanocortina) y un nivel menor del neuropéptido-Y (NPY), y argumentaron que estas diferencias en la expresión del NPY tienen gran efecto en la eficiencia alimenticia de novillos Angus. Se considera que la hormona NPY es encargada de estimular la alimentación, mientras que la hormona POMC la restringe (Cota *et al.*, 2006).

Fitzsimons *et al.* (2013) determinaron que el ganado con RFI alto dedicó, en promedio, 10.3 min más consumiendo alimento (promedio de 93 minutos de consumo de alimento en 24 h), que el ganado de RFI bajo, el cual registra también menos tiempo en el comedero. En el presente trabajo los animales con RFI bajo tuvieron también un registro de menor consumo de alimento.

## 5.2 Dietas Experimentales

Los valores de composición química de las dos dietas empleadas en la presente investigación, mostrados en el Cuadro 5, indican que la dieta alta en concentrado (80C:20F) es completamente diferente a la dieta alta en forraje (20C:80F). De esta forma, se puede considerar que las dos dietas experimentales generadas en el presente estudio podrían ser utilizadas para investigar el efecto del inóculo de animales con RFI diferente sobre la producción de gas *in vitro*, el contenido de energía metabolizable y la digestibilidad de la materia orgánica de estas dos dietas con características contrastantes.

Fitzsimons *et al.* (2014b), utilizaron una dieta alta en concentrado (cebada rolada, harina de soya, melaza, minerales y vitaminas) para el período de finalización, reduciendo la proporción de ensilado utilizado al inicio de la prueba, sin eliminarlo por completo para no impactar la actividad normal del rumen. En el presente estudio también se determinó que la dieta con alto contenido de concentrado (80C:20F) tuviera un 20% de forraje.

Lancaster *et al.* (2014), evaluaron el efecto del RFI divergente en bovinos Angus y Santa Gertrudis alimentados con dos dietas diferentes. A novillas Angus ofrecieron una dieta a base de alfalfa picada, maíz rolado, alfalfa y cáscara de algodón con alto contenido de energía (2.85 Mcal ME/kg MS). La segunda dieta fue ofrecida a novillos Santa Gertrudis y fue alta en forraje, teniendo como ingredientes heno de sorgo, maíz rolado, cáscara de algodón, cáscara de soya y harina de algodón, con un contenido de energía de 2.21 Mcal ME/kg MS. Este

planteamiento de dietas experimentales fue similar al utilizado en el presente estudio.

La diversidad entre dietas al ofrecerlas a ganado con RFI divergente brinda oportunidades de estudio de la función mitocondrial (Lancaster *et al.*, 2014), efectos de perfiles bacterianos (Carberry *et al.*, 2012), producción y composición de AGVs (Fitzsimons *et al.*, 2014a, 2014b; Kong *et al.*, 2016), emisiones de CH<sub>4</sub> (Hegarty *et al.*, 2007; Jones *et al.*, 2011; McDonnell *et al.*, 2016), asociación entre las dietas y las variaciones genómicas (Serão *et al.*, 2013).

Hegarty *et al.* (2007), llevaron a cabo una prueba de alimentación con 96 novillos durante un período de 70 días con pesos de 541 a 642 kg, para definir el RFI de ganado, utilizando una dieta a base 75% de grano de cebada y 10% heno de cereal, así como 5% de harinolina. La dieta completa tenía con 15.6% de PC y un contenido de energía de 12.1 MJ EM/kg de MS. Ganado seleccionado con un RFI bajo (Hegarty *et al.*, 2007) mostró un menor consumo de materia seca (8.38 vs 14.13 kg/día) y una menor producción diaria de CH<sub>4</sub> (142.3 vs 190.2 g/día), así como una menor producción de CH<sub>4</sub> por kg de ADP (132 vs 173 g/kg de ADP). Hegarty *et al.* (2007), propusieron que el ganado seleccionado para tener RFI más bajo tendría mayor impacto sobre la producción diaria de CH<sub>4</sub> en dietas con mayor contenido de forraje. Manzanilla-Pech *et al.* (2022), estimaron que la heredabilidad en la producción de CH<sub>4</sub> g/día en vacas Holstein fue de  $h^2 = 0.21$ , por lo que recomiendan que se incluya la producción de CH<sub>4</sub> con valor económico negativo con el fin de alcanzar el objetivo de reducir su emisión en menos generaciones.

Olijhoek *et al.* (2018), utilizaron dos dietas diferentes con relación de concentrado:forraje (la primera con 61%C:39%F y la segunda con 32%C:68%F), y encontraron que para vacas Holstein con RFI bajo el CH<sub>4</sub>/kg de CMS fue más alto que los animales con RFI alto, en ambas dietas, y concluyeron que el CH<sub>4</sub>/kg de CMS se redujo en vacas Jersey, en respuesta a la dieta que fue alta en concentrado, contrario a lo registrado con vacas Holstein, y mencionaron a la raza como un factor importante para ello. En ese sentido es importante mencionar

que en el presente trabajo se utilizaron inóculos de animales de raza Simmental, por lo que los resultados obtenidos deben ser considerados con esa anotación.

Serão *et al.* (2013) determinaron que existe una interacción significativa entre la raza y la dieta, sobre la eficiencia de utilización de los alimentos, por lo que es necesario que se utilicen varios indicadores genéticos para complementar el concepto de la eficiencia alimenticia que pueda ser aprovechada para propósitos de sistemas de selección animal, ya que los autores confirmaron que existía asociación de 17 SNPs y 7 haplotipos con la variable eficiencia alimenticia.

Zhou *et al.* (2009), al utilizar una dieta baja en forraje encontraron que no existía una diferencia significativa en las poblaciones de metanógenos en el rumen de bovinos con RFI alto o animales con RFI bajo. Manafiazar *et al.* (2021) utilizaron una dieta alta en forraje y encontraron una menor presencia de arqueas del género *Methanosphaera*, especies ISO 3-F5 y una abundancia relativa de *Methanobrevibacter wolinii* en novillas con RFI bajo, reportando que las emisiones de CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub> se pueden predecir al tener los perfiles metanógenos fecales.

Fitzsimons *et al.* (2014b), encontraron que el tamaño del retículo-rumen fue mayor en bovinos Simmental con RFI bajo a comparación de los bovinos con RFI alto, sugiriendo que el tamaño del retículo-rumen puede influir en la variabilidad del RFI en bovinos de carne al brindarles una dieta alta en concentrado. Sin embargo, las dietas altas en concentrado hacen que el pH descienda impactando a los organismos metanogénicos haciéndolos más sensibles (Noel *et al.*, 2019).

Por otro lado, al utilizar una dieta alta en forraje es mucho más perceptible conocer la relación entre el RFI y la variedad de comunidades bacterianas respecto a cuando se utiliza una dieta a base de concentrado en novillas (Carberry *et al.*, 2012). Freetly *et al.* (2020) al estimar la herencia del RFI, la GDP y los índices que limitan la ingesta, encontraron que la ingesta de materia seca y la ganancia de peso eran altamente heredables, genéticamente correlacionados entre novillas de 333 días de edad y vacas de 5 años, alimentadas con una dieta alta en forraje (70%) y baja (30%) en concentrado.

### 5.3 Producción de Gas (PGIV)

En el presente estudio, la producción de gas de la dieta alta en concentrado incubada *in vitro* con inóculo ruminal de bovinos, fue mayor en las muestras que utilizaban inóculo de bovinos con RFI bajo, en los tiempos de 3, 6, 12 y 24 hrs de incubación (Figura 4). Estos resultados difieren con las observaciones de Freetly *et al.* (2015), quienes determinaron que la producción de metano fue similar entre animales con RFI alto y bajo, y dedujeron que habría un proceso fermentativo similar para animales de RFI divergente que fueron alimentados con una dieta alta en concentrado.

Shabat *et al.* (2016), utilizaron la técnica de producción de gas *in vitro* (PGIV) empleando inóculo de animales alimentados con una dieta 70%F:30%C, y reportaron menor abundancia en el número de especies en el microbioma ruminal de vacas con RFI bajo. Detectaron además, que los animales con RFI alto, al tener una abundancia en especies en su microbioma, tienen una reducida disponibilidad de energía útil para sus funciones vitales. Por tanto, dedujeron que los bovinos eficientes cuentan con microbioma más sencillo y más especializado. En el presente estudio, los resultados de la PGIV al incubar una dieta alta en forraje fueron diferentes cuando se utilizó inóculo de bovinos de RFI alto y de RFI bajo. Esto fue semejante a lo previamente reportado por Shabat *et al.* (2016), utilizando una dieta alta en forraje.

En el Cuadro 7 se hace una relación sumariada de resultados publicados previamente (Getachew *et al.*, 2002); Melesse *et al.*, 2017) y se incluye una descripción breve de los resultados obtenidos en el presente estudio. Al incubar ingredientes concentrados, Getachew *et al.* (2002), observaron mayor producción de gas que al incubar ingredientes con alto contenido de fibra. Bernal Barragán *et al.* (2022) incubaron alimentos con líquido ruminal provenientes de borregos fistulados alimentados con una dieta balanceada con 75% de forraje y 25% de concentrados energéticos, y obtuvieron una mayor producción de gas *in vitro* con alimentos concentrados, que con los alimentos que contenían forrajes para ovinos (Cuadro 7).

**Cuadro 7.** Comparación de resultados obtenidos de producción de gas al utilizar la técnica *in vitro* de PGIV por diferentes autores comparándola con los resultados obtenidos en la presente investigación.

Alimento	Resultados de PGIV	Referencias
Nueve ingredientes concentrados	Los ingredientes concentrados tuvieron 52.7 ml gas/200 mg de muestra.	Getachew <i>et al.</i> (2002,)
Siete ingredeintes con alto contenido de fibra	Los ingredientes con alto contenido de fibra (forrajes) tuvieron una producción de gas de 45.8 ml gas/200 mg de muestra.	
Nueve pastos forrajeros	Los nueve pastos forrajeros tuvieron una producción promedio de gas, de 40.3 ± 5.52 mL/200 mg MS.	Melesse <i>et al.</i> (2017)
Tres leguminosas forrajeras	Las leguminosas forrajeras produjeron 36.9 ± 6.15 mL de gas/200 mg MS.	Bernal Barragán <i>et al.</i> , (2022)
3 Forrajes	Los tres forrajes tuvieron una PGIV de 18.8 mL/200 mg MS	
3 alimentos concentrados	Los tres alimentos concentrados tuvieron una PGIV de 50.7 mL/200 mg MS	

Por medio de incubaciones *in vitro*, Johnson y colaboradores (2019), determinaron la producción de CH<sub>4</sub> utilizando líquido ruminal y muestras fecales

de bovinos con RFI diferente, con una dieta 50%F:50%C, y no encontraron diferencias entre inóculos en la producción de metano. Desafortunadamente no se estimó la producción de gas *in vitro*.

Melesse *et al.* (2017), compararon la producción de gas y de CH<sub>4</sub> de muestras de nueve pastos forrajeros y tres leguminosas forrajeras, obteniendo valores similares de PGIV en pastos forrajeros (40.3 ± 5.52 mL/200 mg MS) que en leguminosas forrajeras (36.9 ± 6.15 mL/200 mg MS). De los pastos forrajeros, *Hyparrhenia cymbaria*, *Panicum maximum*, *Avena sativa* y *Cynodon dactylon* tuvieron los valores más altos ( $P < 0.05$ ) de producción de gas. La PGIV más baja fue registrada en la leguminosa forrajera *Desmodium intortum*, cuyos valores de taninos totales y concentración de fenoles fueron altos, lo cual probablemente podría actuar de forma negativa ante el proceso fermentativo, impidiendo la degradación de esta leguminosa forrajera. La producción de CH<sub>4</sub> fue más alta para los pastos forrajeros (6.23 ± 1.42 ml de CH<sub>4</sub>/200 mg MS) que para las leguminosas forrajeras (5.34 ± 1.21 ml de CH<sub>4</sub>/200 mg MS) (Melesse *et al.*, 2017).

#### **5.4 Digestibilidad *in vitro* de la Materia Orgánica (DIVMO)**

En la presente investigación se determinó la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de las dos dietas evaluadas, y los resultados obtenidos son acordes a lo que se esperaría dadas las características en que se generaron y elaboraron ambas dietas. La digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO), determinada en la dieta con alta concentración de concentrado fue de 58.7%, mientras que la DIVMO determinada en la dieta con alta concentración de forraje fue de 38.73% (Cuadro 6). Al revisar los resultados de composición química de las dos dietas experimentales generadas para ser evaluadas en este trabajo de investigación, se puede observar que estos resultados son en gran medida reflejo del contenido de Proteína y las fracciones de Fibra (Fibra Detergente Neutro , FDN y Fibra Detergente Ácido FDA), en la medida que al tener la dieta 2 menor contenido de proteína y mayor contenido de FDN y de FDA, su digestibilidad

(DIVMO) fue menor. En cambio, en el caso de la dieta 1, su contenido de proteína cruda fue mayor, pero sus contenidos de FDN y de FDA fueron menores a los de la dieta 2, y su digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica fue mayor. Sin embargo, dadas las muy diversas combinaciones que se tienen de contenidos de proteína cruda y de las fracciones de fibra, tal y como se observa en los resultados publicados por Bernal Barragán *et al.* (2022), es mejor realizar la determinación de la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO), en la que además de la producción de gas *in vitro*, también se consideran los resultados de la composición química.

Sumarizando en este tema, se puede comentar que un factor que determina de manera importante la digestibilidad es el tipo de dieta. En el presente trabajo, se incubaron dos dietas contrastantes: una con alta proporción de concentrado y una con alta proporción de forraje, y se obtuvieron resultados de una mayor DIVMO ( $P=0.001$ ) en la dieta alta en concentrado (58.7 % de digestibilidad *in vitro* de la Materia Orgánica), mientras que la dieta con alta proporción de forraje tuvo una DIVMO 38.7 %. Krizsan *et al.* (2012), al utilizar el método de PGIV, determinó valores de la DIVMO similar a los observados en el presente estudio. Estos resultados son consistentes con los reportados por Bonilha *et al.* (2017), quienes señalaron la relación entre el tipo de dieta y sus correspondientes valores de digestibilidad, en donde dietas con valores altos de PC y con valores bajos de FDN, FDA, y lignina favorecen una mayor digestibilidad.

En el Cuadro 6 se muestra también, que los resultados obtenidos de la DIVMO fueron diferentes dependiendo de si el inóculo ruminal utilizado en las incubaciones de las dietas a evaluar proviene de bovinos Simmental de RFI bajo, o de bovinos de RFI alto. Se recuerda que la interacción Dieta x Inóculo resultó no significativa ( $P > 0.05$ ; Cuadro 6).

Estos resultados fueron diferentes a lo reportado previamente por Lawrence *et al.* (2011), quienes encontraron valores similares de digestibilidad de alimento en vacas gestantes Simmental y novillas Simmental x Holstein-Friesian, así como por Cruz *et al.* (2010), en novillos Angus x Hereford.

En la literatura científica se encuentran resultados contrastantes sobre este tópico. Por ejemplo, Xie *et al.* (2019), informaron que las vacas Holstein con RFI bajo mostraron una menor ingesta de MS que las vacas con RFI alto, y determinaron valores de la digestibilidad aparente similares entre animales con RFI alto y RFI bajo. En cambio, Nkrumah *et al.* (2006), reportaron una mayor digestibilidad aparente del alimento, en novillos de raza Continental x British con RFI bajo. Krueger *et al.* (2009), observaron también mayor digestibilidad de proteína cruda en novillas con RFI bajo.

Rius *et al.* (2012) encontraron que existe una baja producción de Nitrógeno fecal y un incremento en la digestibilidad aparente de N en vacas con RFI bajo, disminuyendo las pérdidas de nitrógeno al ser alimentadas con ryegrass (*Lolium perenne* L.) fresco. De igual manera, Bonilha *et al.* (2017), encontraron que al incubar alimentos en líquido ruminal de bovinos Nelore con RFI bajo, se obtuvieron mayores valores de digestibilidad de materia orgánica, lo que se traduce en una mayor capacidad de utilización de los piensos, siendo esto similar a lo reportado en esta investigación, afirmando que bovinos con RFI bajo son más eficientes en relación con la digestibilidad de la materia orgánica.

Bonihla *et al.* (2017), documentaron también una mayor digestibilidad de la materia orgánica y de la fracción de fibra FDN en bovinos con RFI bajo (Cuadro 8), siendo estos hallazgos similares a lo reportado en la presente investigación (Cuadro 6). Sin embargo, no detectaron diferencias significativas en digestibilidad de PC, EE y carbohidratos no fibrosos entre bovinos con diferente RFI.

Como información adicional, Bonihla *et al.* (2017), encontraron que bovinos con RFI bajo, mostraron niveles más bajos de cortisol, y especularon que niveles más bajos de estrés podrían favorecer la digestibilidad de la dieta en bovinos con RFI bajo.

**Cuadro 8.** Comparación de resultados obtenidos de DIVMO de diferentes autores para comparar con los resultados obtenidos en la presente investigación.

Alimento	Resultados de DIVMO	Referencias
Dieta integral para vacas lecheras, con 16% de PC y 32.9% de FDN.	Resultados de valores similares de digestibilidad de MS de la dieta en vacas con RFI bajo (64.0%) y con RFI alto (64.4%).	Xie <i>et al.</i> (2019)
10 vacas lecheras con RFI bajo		
8 vacas lecheras con RFI alto		
Dieta integral para bovinos de engorda, 81%C:19%F).	Resultados de valores similares de digestibilidad de Materia Orgánica de la dieta en bovinos de engorda con RFI bajo (53.7%) y con RFI alto (49.1%).	Bonilha <i>et al.</i> (2017)
13 bovinos de RFI bajo (-0.266)		
12 bovinos de RFI alto (+0.395)		
Dieta integral para bovinos de engorda, 85%C:15%F).	Una tendencia (P=0.10) a mayor digestibilidad (% MS) de la dieta en bovinos de RFI bajo (75.3%) comparada con la digestibilidad de la dieta en bovinos de RFI alto (70.9%).	Nkrumah <i>et al.</i> (2014)
8 bovinos de RFI bajo (-1.18)		
11 bovinos de RFI alto (+1.25)		

Herd *et al.* (2004), sugirieron que pequeñas variaciones en mecanismos metabólicos son responsables de influir en la capacidad de digestión y en la eficiencia de utilización del alimento. Otros investigadores (Hristov *et al.*, 2013), señalaron que diferencias de ingesta de alimento, el proceso de digestión, la eficiencia en la utilización de energía y su termorregulación influyen también en las variaciones en la producción de metano.

### **5.5 Energía Metabolizable (EM)**

En el presente trabajo, se utilizaron los valores de producción de gas y los resultados de composición química de las muestras, para estimar el contenido de Energía Metabolizable de las dos dietas experimentales. Se determinó un contenido de energía 68% mayor ( $P=0.001$ ) en la dieta con alta proporción de concentrado, que el contenido de energía de 1.11 Mcal EM/kg estimado para la dieta con mayor proporción de forraje. Resultados similares fueron encontrados por Melesse *et al.* (2017), quienes reportaron valores de energía metabolizable proporcionales a los valores de producción de gas *in vitro*. Aunque Herd *et al.* (2004) y Richardson *et al.* (2004a), mencionaron que dependiendo de la selección de alimentos y el tipo de proteínas y su grado de digestibilidad, influyen notoriamente en los valores de energía de la dieta.

En la presente investigación, el contenido de energía determinado en las dietas experimentales fue 14% mayor ( $P=0.040$ ) al utilizar el inóculo ruminal de bovinos con RFI bajo que al utilizar el líquido ruminal de bovinos con RFI alto. Este hallazgo permite suponer que en bovinos de RFI contrastante estas diferencias de tasas de fermentación a nivel ruminal contribuyen también a determinar las diferencias en la eficiencia de utilización de nutrientes y energía de la dieta.

Este aspecto es novedoso, y complementa lo reportado en estudios previos. Por ejemplo, Saenz *et al.* (2013), sugirieron que un mecanismo importante en la determinación de RFI, son las diferencias en los gastos de energía destinadas al mantenimiento de los animales. En ese sentido, Montañó-Bermudez y Nielsen (1990), habían indicado que aproximadamente dos tercios de la energía es

destinada a cubrir los requerimientos de mantenimiento de los bovinos. Castro Bulle *et al.* (2007), demostraron que animales con RFI bajo destinaban menos energía para su mantenimiento. Este aspecto también ha sido estudiado en nutrición de porcinos. Barea *et al.* (2010), investigaron el efecto que tiene la selección de cerdos con RFI divergente en el proceso digestivo y en la utilización de la energía metabolizable, y concluyeron que la mejor eficiencia de utilización de alimento en cerdos con RFI bajo era debido a que tenían una menor producción de calor (8% menor en su estudio) relacionada con su actividad física y su tasa metabólica basal, aunado a una producción menor de CO<sub>2</sub>.

Estudios realizados en bovinos (Basarab *et al.*, 2003), determinaron que toros con RFI bajo tenían un 10.2% menor ingesta de energía y una producción de calor 9.3% menor, comparados con toros de RFI alto.

## **5.6 Ácidos Grasos Volátiles (AGVs)**

La determinación de la proporción molar de ácidos grasos volátiles (AGVs) producidos en la fermentación de los alimentos en el rumen, tiene especial importancia para el metabolismo energético de las bacterias del rumen y del bovino hospedero.

La glucosa tiene un papel fundamental como fuente de energía para el hospedero. En el caso de los bovinos, los AGVs producidos por la microbiota del rumen y absorbidos a través de las papilas ruminales hacia la circulación sanguínea, son utilizados en las células de los tejidos para producir glucosa por medio del proceso de gluconeogénesis (Ramírez-Lozano, 2009).

El estudio de la digestión ruminal de carbohidratos y su consecuente producción y proporción de AGVs en animales, así como la eventual diferenciación de producción y proporción de AGVs entre animales con RFI alto y RFI bajo, puede generar nuevos planteamientos de investigación para mejorar la eficiencia de utilización de alimentos por los bovinos (Lawrence *et al.*, 2011; Fitzsimons *et al.*, 2013; McDonnell *et al.*, 2016).

En la presente investigación, se encontró que la concentración total de ácidos grasos volátiles fue similar en la dieta alta en forraje y en la dieta alta en concentrado, ya que las diferencias numéricas detectadas no alcanzaron el nivel de significancia estadística. Johnson *et al.* (2019), al investigar la relación entre el RFI, la producción de CH<sub>4</sub> *in vitro*, la digestibilidad de nutrientes y las concentraciones de AGVs, detectaron diferencias no significativas en las concentraciones totales de AGVs.

En el presente estudio, la concentración de AGVs totales fue similar cuando ambas dietas experimentales se incubaron con líquido ruminal de bovinos con RFI alto y RFI bajo. En cambio, Guan *et al.* (2008), al utilizar una dieta a base de maíz registraron una proporción de AGVs totales tendencialmente mayor ( $P=0.06$ ) en novillos con RFI bajo que en los novillos con RFI alto.

Como parte de resultados obtenidos en el presente estudio, se detectó una mayor proporción de ácido acético al incubar la dieta alta en forraje, mientras que se tuvo una mayor concentración de ácido propiónico, al utilizar una dieta alta en concentrado. Estos resultados se obtuvieron al haber incubado las dos dietas experimentales indistintamente del origen del inóculo ruminal que haya provenido de bovinos con RFI alto o RFI bajo. En contraste, Johnson *et al.* (2019) obtuvieron una ligera menor concentración de ácido propiónico en novillas con RFI bajo y una tendencia ( $P=0.09$ ) a una relación ligeramente mayor de ácido acético:ácido propiónico en novillas con RFI alto. En cambio, Guan *et al.* (2008), alimentaron novillos con una dieta a base de maíz, y registraron una proporción tendencialmente ( $P=0.07$ ) mayor de ácido acético, y una proporción significativamente mayor ( $P<0.001$ ) de ácido butírico en novillos con RFI bajo que en novillos con RFI alto.

Fitzsimons *et al.* (2013), determinaron una relación de ácido acético:ácido propiónico menor ( $P=0.05$ ) en vaquillas con RFI bajo, al utilizar una dieta alta en forraje, y asociado con ello también registraron una producción diaria de metano 12.5% menor que vaquillas con RFI alto. Lawrence *et al.* (2011), reportaron en vacas gestantes una relación ácido acético:ácido propiónico menor ( $P=0.04$ ), y

una proporción de ácido propiónico mayor en vacas con RFI bajo, alimentadas con una dieta a base de concentrado, pero no observaron diferencias en las proporciones del ácido acético y el ácido butírico. En este caso, tanto la edad de los animales, así como las dietas utilizadas, difirieron sustancialmente a las condiciones en las que se desarrolló la presente investigación, por lo que estos dos factores pudieron haber sido, al menos, parcialmente responsables de que en la presente investigación, al utilizar una dieta alta en concentrado, las concentraciones de ácido acético y ácido propiónico hayan sido similares al haber sido incubadas con inóculo proveniente de bovinos con RFI bajo o RFI alto.

Algunas investigaciones (Myer *et al.*, 2015; Shabat *et al.*, 2016), han detectado una relación del microbioma ruminal, con las concentraciones de AGVs y con el RFI de bovinos. Según Janssen (2010) y Theodorou y France (2005), la proporción de ácidos grasos volátiles producidos en el rumen, está determinada por el tipo de dieta y las especies de poblaciones del microbioma ruminal, ya que Carberry *et al.* (2012), así como Myer *et al.* (2015) registraron mayor abundancia de bacterias *Prevotella sp.* y del protozoario *Entodinium*, en bovinos con RFI alto. También reportaron una menor abundancia de bacterias *Fibrobacter succinogenes*, cuando se ofreció una dieta baja en forraje.

Kong *et al.* (2016), realizaron una secuenciación de ARN para conocer el perfil de transcriptoma del epitelio ruminal de novillos raza Hereford x Angus con RFI divergente, y no encontraron diferencias significativas en la expresión de los genes asociados con el metabolismo de AGVs. Otros estudios han encontrado varios polimorfismos de un nucleótido que influye la tasa prevista de emisiones de CH<sub>4</sub> en vacas Holstein (Haas *et al.*, 2011) y Angus (Manzanilla *et al.*, 2016). Sarghale *et al.* (2020) realizaron un estudio de asociación genómica, y encontraron polimorfismos de nucleótidos únicos, que están relacionados con los AGVs y regiones específicas como BTA3, los cuales están asociados con las proporciones de los ácidos acético y propiónico.

Clemmons *et al.* (2023), intentaron identificar los biomarcadores responsables de la diferencia en el RFI, evaluando el metaboloma de la sangre en novillas Angus,

y detectaron una alta abundancia de nitrógeno ureico en sangre en bovinos con RFI alto. Estos resultados podrían implicar una utilización deficiente de la proteína o una ineficiente movilización de proteína tisular en bovinos con RFI alto. También, detectaron mayores concentraciones de glucosa en la sangre en novillas de RFI bajo, lo cual podría indicar una mayor utilización de precursores energéticos como los metabolitos y AGVs para propósitos de síntesis de glucosa.

Según Lancaster *et al.* (2014) y Fernandez *et al.* (2020), la divergencia en el RFI de bovinos también puede ser explicada por diferencias a nivel mitocondrial, en donde se genera el 90% de ATP (Rolfe y Brown, 1997). Lancaster *et al.* (2014), determinaron que en hepatocitos de bovinos con RFI bajo, se encontró mayor presencia de sistemas enzimáticos aceptores de protones, indicadores de la tasa respiratoria dentro de la mitocondria. También, se encontró mayor presencia de complejo mitocondrial en linfocitos de novillos con RFI bajo, que en aquellos con RFI alto, lo que sugiere una mayor producción de ATP en bovinos con eficiente utilización de alimento (Ramos y Kerley, 2013).

Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten inferir que las diferencias en utilización de nutrientes de los animales con RFI contrastante, tienen su origen en la degradación de alimentos en el rumen de bovinos, pero los conocimientos generados por diversas investigaciones indican que diferencias en el metabolismo celular, contribuyen también a la definición de RFI (bajo o alto) de cada animal, por lo que su estudio se debe considerar en las investigaciones futuras.

## 6. CONCLUSIONES

La dieta experimental alta en concentrado generada y elaborada para su incubación en el presente experimento registró mayores valores de producción de gas *in vitro*, digestibilidad *in vitro* de materia orgánica y contenido de energía metabolizable, que la dieta experimental alta en forraje.

La producción de gas *in vitro*, la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y el contenido de energía metabolizable de las dos dietas evaluadas fue mayor al ser incubadas con líquido ruminal de bovinos con RFI bajo que cuando el inóculo ruminal provino de bovinos de RFI alto.

La proporción de ácidos grasos volátiles no difiere al utilizar líquido ruminal de bovinos con RFI bajo o RFI alto, pero sí fue diferente al incubar dietas con proporciones forraje:concentrado contrastantes, ya que se registró una mayor proporción de ácido acético al emplear una dieta alta en forraje y una proporción de ácido propiónico mayor en la dieta alta en concentrado.

Los resultados obtenidos en este estudio permiten concluir que los procesos de fermentación ruminal contribuyen en gran medida junto con mecanismos de absorción y/o metabolismo intermediario de los nutrientes y la energía, en la determinación diferencial de la eficiencia de utilización de nutrientes en bovinos con RFI alto y RFI bajo.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alemu, A. W., J. Dijkstra, A. Bannink, J. France, E. Kebreab. 2011. Rumen stoichiometric models and their contribution and challenges in predicting enteric methane production. *Animal Feed Science and Technology*, 166:761–778.
- AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Arthur, J. P. F., R. M. Herd. 2008. Residual feed intake in beef cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 37(spe):269-279.  
Available electronically from <https://hdl.handle.net/1969.1/3207>.
- Bai, H., Q. Guo, B. Yang, Z. Dong, X. Li, Q. Song, Y. Jiang, Z. Wang, G. Chang, G. Chen. 2022. Effects of residual feed intake divergence on growth performance, carcass traits, meat quality, and blood biochemical parameters in small-sized meat ducks. *Poultry Science*. 101(9):101990.
- Barea, R., S. Dubois, H. Gilbert, P. Sellier, J. Van Milgen, J. Noblet. 2010. Energy utilization in pigs selected for high and low residual feed intake. *Journal of Animal Science*. 88:2062–2072.
- Basarab, J. A., M. A. Price, J. L. Aalhus, E. K. Okine, W. M. Snelling, K. L. Lyle. 2003. Residual feed intake and body composition in young growing cattle. *Canadian Journal Animal Science*. 83:189–204.
- Basso, B., A. Bordas, F. Dubos, P. Morganx, C. Marie-Etancelin. 2012. Feed efficiency in the laying duck: appropriate measurements and genetic parameters. *Poultry Science*. 91:1065–1073.
- Bernal Barragán, H., V. M. Perrusquia, N. C. Vásquez, H. González. 2022. Determination of *in vitro* gas production, nutrient content and metabolizable energy of forages and supplements for sheep and goats. *Ciencia UANL*. 25(115):41-47.
- Berry, DP, J.J. Crowley. 2013. Cell biology symposium: genetics of feed efficiency in dairy and beef cattle. *Animal Science*. 91:1594-1613.

- Bonilha, S. F. M., R. H. Branco, M. E. Z. Mercadante. 2017. Digestion and metabolism of low and high residual feed intake Nellore bulls. *Tropical Animal Health and Production*. 49:529–535.
- Brown, E. G. 2005. Sources of biological variation in residual feed intake in growing and finishing steers. Doctoral Dissertation. Texas A&M University. College Station, Texas, USA.
- Carberry, C. A., D. A. Kenny, S. Han, M. S. McCabe, S. M. Waters. 2012. Effect of phenotypic residual feed intake and dietary forage content on the rumen microbial community of beef cattle. *Applied and Environmental Microbiology*. 78:14.
- Castro Bulle, F. C. P., P. V. Paulino, A. C. Sanches, R. D. Sainz. 2007. Growth, carcass quality, and protein and energy metabolism in beef cattle with different growth potentials and residual feed intakes. *Journal of Animal Science*. 85(4):928–936.
- Clemmons, B. A., S. B. Shin, T. P. Smith, M. M. Embree, B. H. Voy, L. G. Schneider, P. R. Myer. 2021. Ruminal protozoal populations of angus steers differing in feed efficiency. *Animals*. 11(6):1561.
- Clemmons, B. A., T. B. Ault-Seay, M. T. Henniger, M. G. Martin, P. Y. Mulon, D. E. Anderson, B. H. Voy, K. J. McLean, P. R. Myer. 2023. Blood parameters associated with residual feed intake in beef heifers. *BMC Research Notes*. 16(1):177.
- Connor, E. E., J. L. Hutchison, C. P. Van Tassell, J. B. Cole. 2019. Defining the optimal period length and stage of growth or lactation to estimate residual feed intake in dairy cows. *Journal Dairy Science*. 102:6131-6143.
- Cota, D., J. G. Barrera, R. J. Seeley. 2006. Leptin in energy balance and reward: Two faces of the same coin? *Neuron*. 51(6):678–680.
- Crosson, P., L. Shalloo, D. O'Brien, G. J. Lanigan, P. A. Foley, T. M. Boland, D. A. Kenny. 2011. A review of whole farm systems models of greenhouse gas emissions from beef and dairy cattle production systems. *Animal Feed Science and Technology*. 166:29–45.

- Cruz, G. D., J. A. Rodríguez-Sánchez, J. W. Oltjen, R. D. Sainz. 2010. Performance, residual feed intake, digestibility, carcass traits, and profitability of Angus-Hereford steers housed in individual or group pens. *Journal of Animal Science*. 88:324–329.
- Czerkawski, J. W., G. Breckenridge. 1975. New inhibitors of methane production by rumen micro-organisms. Development and testing of inhibitors *in vitro*. *British Journal of Nutrition*. 34:429–444.
- Dirksen, G., M. C. Smith. 1986. Acquisition and analysis of bovine rumen fluid. *The Bovine Practitioner*. 22. Falta información. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.
- Dryden, G. McL. 2008. *Animal Nutrition Science*. CABI. UK. P. 16-39.
- Erwin, E. S., G. J. Marco, E. M. Emery. 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science*. 44:1768–1771. doi: 10.3168/jds. S0022-0302(61)89956-6
- Fan, L. Q., D. R. C. Bailey, N. H. Shannon. 1995. Genetic parameter estimation of postweaning gain, feed intake and feed efficiency for Hereford and Angus bulls fed two different diets. *Animal Science*. 73:365-372.
- Fathi M. M., A. Galal, I. Al-Homidan, O. K. Abou-Emera, G. N. Rayan. 2021. Residual feed intake: A limiting economic factor for selection in poultry breeding programs. *Annals of Agricultural Sciences*. 66:53-57.
- Fathi, M. M., I. Al-Homidan, T. A. Ebeid, A. Galal, O. K. Abou-Emera. 2019. Assessment of residual feed intake and its relevant measurements in two varieties of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) under high environmental temperature. *Animal*. 9:299.
- Fernandez, E. E., J. W. Oltjen, R. D. Sainz. 2020. Mitochondrial abundance and function in muscle from beef steers with divergent residual feed intakes. *Animal*. 14(3):560-565.
- Fitzsimons, C., D. A. Kenny, M. H. Deighton, A. G. Fahey, M. McGee. 2013. Methane emissions, body composition, and rumen fermentation traits of beef heifers differing in residual feed intake. *Animal Science*. 91:5789–5800.

- Fitzsimons, C., D. A. Kenny, A. G. Fahey, M. McGee. 2014a. Feeding behavior, ruminal fermentation, and performance of pregnant beef cows differing in phenotypic residual feed intake offered grass silage. *Journal of Animal Science*. 92:2170–2181.
- Fitzsimons, C., D. A. Kenny, M. McGee. 2014b. Visceral organ weights, digestion and carcass characteristics of beef bulls differing in residual feed intake offered a high concentrate diet. *Animal*. 8:949–959.
- Flay, H. E., B. Kuhn-Sherlock, K. A. Macdonald, M. Camara, N. Lopez-Villalobos, D. J. Donaghy, J. R. Roche. 2019. Hot topic: Selecting cattle for low residual feed intake did not affect daily methane production but increased methane yield. *Journal Dairy Science*. 102:2708-2713.
- Freetly H.C., A. K. Lindholm-Perry, K. E. Hales, T. M. Brown-Brandl, M. Kim, P. R. Myer, J. E. Wells. 2015. Methane production and methanogen levels in steers that differ in residual gain. *Journal Animal Science*. 93:2375-2381. doi:10.1093/jas/skz394
- Freetly, H. C., L. A. Kuehn, R. M. Thallman, W. M. Snelling. 2020. Heritability and genetic correlations of feed intake, body weight gain, residual gain, and residual feed intake of beef cattle as heifers and cows. *Journal of Animal Science*. 98(1):skz394.
- Galyean, M. L., N. A. Cole, L. O. Tedeschi, M. E. Branine. 2016. Board-invited review: efficiency of converting digestible energy to metabolizable energy and reevaluation of the California Net Energy System maintenance requirements and equations for predicting dietary net energy values for beef cattle. *Journal Animal Science*. 94:1329–1341. doi: 10.2527/jas.2015-0223.
- Gaviria, X., J. Rivera, R. Barahona. 2015. Nutritional quality and fractionation of carbohydrates and protein in the forage components of an intensive silvopastoral system. *Pastos y Forrajes*. 38(2):194-201.
- Getachew, G., G. M. Croveto M. Fondevila, U. Krishnamoorthy, B. Singh, M. Spanghero, H. Steingass, P. H. Robinson, M. M. Kailas. 2002. Laboratory variation of 24 h *in vitro* gas production and estimated

- metabolizable energy values of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 102(1-4):169-180.
- Gomes, R. D. C., R. D. Sainz, P. R. Leme. 2013. Protein metabolism, feed energy partitioning, behavior patterns and plasma cortisol in Nelore steers with high and low residual feed intake. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 42:44-50.
- Green, T.C., J. G. Jago, K. A. Macdonald, G. C. Waghorn. 2013. Relationships between residual feed intake, average daily gain, and feeding behavior in growing dairy heifers. *Dairy Science*. 96:3098-3107.
- Guan, L. L., J. D. Nkrumah, J. A. Basarab, S. S. Moore. 2008. Linkage of microbial ecology to phenotype: Correlation of rumen microbial ecology to cattle's feed efficiency. *FEMS Microbiology Letters*. 288:85–91. doi: 10.1111/j.1574-6968.2008.01343.x.
- Haas, Y. d, J. J. Windig, M. P. Calus, J. Dijkstra, M. d. Haan, A. Bannink, R. F. Veerkamp. 2011. Genetic parameters for predicted methane production and potential for reducing enteric emissions through genomic selection. *Journal Dairy Science*. 94(12):6122-34. doi: 10.3168/jds.2011-4439.
- Hegarty, R. S., J. P. Goopy, R. M. Herd, B. McCorkell. 2007. Cattle selected for lower residual feed intake have reduced daily methane production. *Journal of Animal Science*. 85(6):1479-1486.
- Herd, R. M., J. A. Archer, P. F. Arthur. 2003. Reducing the cost of beef production through genetic improvement in residual feed intake: Opportunity and challenges to application. *Journal of Animal Science*. 81(13):E9-E17.
- Herd, R. M., P. F. Arthur. 2009. Physiological basis for residual feed intake. *Animal Science*. 87(14):E64–E71.
- Herd, R. M., R. W. Dicker, G. J. Lee, D. J. Johnston, A. J. Hammond V. H. Oddy. 2004. Steer growth and feed efficiency on pasture are favourably associated with genetic variation in sire net feed intake. *Animal Production in Australia*. 25:93–96.

- Hietala, P., M. Wolfová, J. Wolf, J. Kantanen, J. Juga. 2014. Economic values of production and functional traits, including residual feed intake, in Finnish milk production. *Dairy Science*. 97(2):1092-106.
- Hristov, A. N., J. Oh, J. L. Firkins, J. Dijkstra, E. Kebreab, G. Waghorn, H. P. S. Makkar, A. T. Adesogan, W. Yang, C. Lee, P. J. Gerber, B. Henderson, J. M. Tricarico. 2013. SPECIAL TOPICS: Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. *Journal of Animal Science*. 91(11):5045–5069.
- Hungate, R. E. 1966. *The Rumen and its Microbes*. Academic Press, New York, NY, USA.
- Janssen, P. H. 2010. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Animal Feed Science and Technology*. 160:1–22.
- Johnson, J. R., G. E. Carstens, W. K. Krueger, P. A. Lancaster, E. G. Brown, L. O. Tedeschi, R. C. Anderson, K. A. Johnson, A. Brosh. 2019. Associations between residual feed intake and apparent nutrient digestibility, in vitro methane-producing activity, and volatile fatty acid concentrations in growing beef cattle. *Journal of Animal Science*. 97(8):3550–3561. <https://doi.org/10.1093/jas/skz195>.
- Jones, F. M., F. A. Phillips, T. Naylor, N. B. Mercer. 2011. Methane emissions from grazing Angus beef cows selected for divergent residual feed intake. *Animal Feed Science and Technology*. 166–167:302–307.
- Kenny, D. A., C. Fitzsimons, S. M. Waters, M. McGee. 2018. Invited review: Improving feed efficiency of beef cattle – the current state of the art and future challenges. *Animal*. 12(9):1815–1826.
- Koch, R. M., L. A. Swiger, D. Chambers, K. E. Gregory. 1963. Efficiency of Feed Use in Beef Cattle. *Journal of Animal Science*. 22 (2):486–494. <https://doi.org/10.2527/jas1963.222486x>

- Kong, R. S. G., G. Liang, Y. Chen, P. Stothard, L. L. Guan. 2016. Transcriptome profiling of the rumen epithelium of beef cattle differing in residual feed intake. *BMC Genomics*. 17:592. doi: 10.1186/s12864-016-2935-4
- Krueger, W. K. 2009. Understanding beef cattle efficiency: (I) Understanding physiological and digestive factors affecting residual feed intake and (II) tannin supplementation: effects on animal performance, fermentation, and carcass traits. Doctoral Thesis, Texas A&M University. pp:35-37.
- Lancaster, P. A., G. E. Carstens, D. H. Crews Jr., T. H. Welsh Jr., T. D. A. Forbes, D. W. Forrest, L. O. Tedeschi, R. D. Randel, F. M. Rouquette. 2009. Phenotypic and genetic relationships of residual feed intake with performance and ultrasound carcass traits in Brangus heifers. *Journal of Animal Science*. 87(12):3887-3896.
- Lancaster, P. A., G. E. Carstens, J. J. Michal, K. M. Brennan, K. A. Johnson, M. E. Davis. 2014. Relationships between residual feed intake and hepatic mitochondrial function in growing beef cattle. *Journal of Animal Science*. 92:3134–3141.
- Lawrence, P., D. A. Kenny, B. Earley, D. H. Crews, M. McGee. 2011. Grass silage intake, rumen and blood variables, ultrasonic and body measurements, feeding behavior and activity in pregnant beef heifers differing in phenotypic residual feed intake. *Journal of Animal Science*. 89:3248–3261.
- Lawrence, P., D. A. Kenny, B. Earley, M. McGee. 2012. Grazed grass herbage intake and performance of beef heifers with predetermined phenotypic residual feed intake classification. *Animal*. 6:1648–1661.
- Lawrence, P., D. A. Kenny, B. Earley, M. McGee. 2013. Intake of conserved and grazed grass and performance traits in beef suckler cows differing in phenotypic residual feed intake. *Livestock Science*. 152:154–166.
- Lines, D. S., W. S. Pitchford, C. D. K. Bottema, R. M. Herd, V. H. Oddy. 2014. Selection for residual feed intake affects appetite and body composition

- rather than energetic efficiency. *Animal Production Science*. 58(1):175-184.
- Lippke H, W. C. Ellis, B. F. Jacobs. 1986. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. *Journal of Dairy Science*. 69:403–412.
- Liu, M. F., L. A., Goonewardene, M. Makarechian, D. R. C. Bailey. 1998. A study on feed efficiency of young beef bulls in a test station. Proc. 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Armidale, NSW, Australia. 23:217-220.
- Macdonald, K. A., J. E. Pryce, R. J. Spelman, S. R. Davis, W. J. Wales, G. C. Waghorn, Y. J. Williams, L. C. Marett, B. J. Hayes. 2014. Holstein-Friesian calves selected for divergence in residual feed intake during growth exhibited significant but reduced residual feed intake divergence in their first lactation. *Dairy Science*. 97(3):1427-35.
- Manafiazar, G., C. Fitzsimmons, M. Zhou, J. A. Basarab, V. S. Baron, L. McKeown, L. L. Guan. 2021. Association between fecal methanogen species with methane production and grazed forage intake of beef heifers classified for residual feed intake under drylot conditions. *Animal*. 15(8):100304.
- Manafiazar, G., J. A. Basarab, L. McKeown, J. Stewart-Smith, V. Baron, M. D. MacNeil, G. Plastow. 2017. Optimizing feed intake recording and feed efficiency estimation to increase the rate of genetic gain for feed efficiency in beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*. 97:456–465.
- Manzanilla-Pech, C. I. V., G. F. Difford, P. Løvendahl, R. B. Stephansen, J. Lassen. 2022. Genetic (co-) variation of methane emissions, efficiency, and production traits in Danish Holstein cattle along and across lactations. *Journal of Dairy Science*. 105(12):9799-9809.
- Manzanilla-Pech, C. I. V., Y. De Haas, B. J. Hayes, R. F. Veerkamp, M. Khansefid, K. A. Donoghue, P. F. Arthur, J. E. Pryce. 2016. Genomewide association study of methane emissions in Angus beef

- cattle with validation in dairy cattle. *Journal Animal Science*. 94(10):4151-4166. doi: 10.2527/jas.2016-0431.
- Martín, E., E. Pérez, S. Cañón, J. Rodríguez, F. Rodríguez. 2005. Ruminal anaerobic microorganism recovery using an experimental oro-ruminal probe. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 6(1):39-42.
- McBee, R. H. 1953. Manometric method for the evaluation of microbial activity in the rumen with application to utilization of cellulose and hemicelluloses. *Applied Microbiology*. 1(2):106–110.
- McDonnell, R. P., K. J. Hart, T. M. Boland, A. K. Kelly, M. McGee, D. A. Kenny. 2016. Effect of divergence in phenotypic residual feed intake on methane emissions, ruminal fermentation, and apparent whole tract digestibility of beef heifers across three contrasting diets. *Journal of Animal Science*. 94:1179–1193.
- McDougall, E. I. 1948. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemical Journal*. 43(1):99.
- McGee, M., C. M. Welch, J. A. Ramirez, G. E. Carstens, W. J. Price, J. B. Hall, R. A. Hill. 2014. Relationships of feeding behaviors with average daily gain, dry matter intake, and residual feed intake in Red Angus-sired cattle. *Journal of Animal Science*. 92:5214–5221.
- Meir, Y. B., M. Nikbachat, Y. Fortnik, S. Jacoby, H. Levit, G. Adin, J. Miron. 2018. Eating behavior, milk production, rumination, and digestibility characteristics of high and low efficiency lactating cows fed a low roughage diet. *Journal of Dairy Science*. 101(12):10973-10984.
- Melesse, A., H. Steingass, M. Schollenberger, M. Rodehutschord. 2017. Screening of common tropical grass and legume forages in Ethiopia for their nutrient composition and methane production profile *in vitro*. *Tropical Grassland*. 5(3):163-175.
- Mendes, E. D., G. E. Carstens, L. O. Tedeschi, W. E. Pinchak, T. H. Friend. 2011. Validation of a system for monitoring feeding behavior in beef cattle. *Animal Science*. 89(9):2904-2910.

- Menke, K. H., H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal research and development*. 28:7-55.
- Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, H. Fritz, W. Scheneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Agricultural Science. Camb.* 93:217–222.
- Meyer, A. M., M. S. Kerley, R. L. Kallenbach. 2008. The effect of residual feed intake classification on forage intake by grazing beef cows. *Journal of Animal Science*. 86(10):2670–2679.
- Montaño-Bermudez, M., M. K. Nielsen. 1990. Biological efficiency to weaning and to slaughter of crossbred beef cattle with different genetic potential for milk. *Journal of Animal Science*. 68(8):2297-2309.
- Moore, S. S., F. D Mujibi, E. L. Sherman. 2009. Molecular basis for residual feed intake in beef cattle. *Journal Animal Science*. 87:41–47.
- Myer, P. R., T.P.L. Smith, J. E. Wells, L. A Kuehn, H. C. Freetly. 2015. Rumen microbiome from steers differing in feed efficiency. *Plos One*. 10:e0129174.
- Navarro, O. C. A., V. M. L. Roa. 2020. Determination of *in vitro* digestibility of forage species used in ruminant feeding. *Tropical Animal Health and Production*. 52:3045– 3059.
- Nkrumah, J. D., E. K. Okine, G. W. Mathison, K. Schmid, C. Li, J. A. Bashara, M. A. Price, Z. Wang, S. S. Moore. 2006. Relationships of feedlot efficiency, performance, and feeding behavior with metabolic rate, methane production, and energy partitioning in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 84:145–153.
- Noel, S. J., D. W. Olijhoek, F. Mclean, P. Løvendahl, P. Lund, O. Højberg. 2019. Rumen and fecal microbial community structure of Holstein and Jersey dairy cows as affected by breed, diet, and residual feed intake. *Animals*. 9(8):498.

- NRC. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. 2016. Nutrient Requirements of Beef Cattle, Eighth Revised Edition. Washington, DC: The National Academies Press. doi: 10.17226/19014.
- Okine, E. K., J. A. Bashara, V. Baron, M. A. Price. 2001. Net feed efficiency in young growing cattle: III. Relationships to methane and manure production. *Canadian Journal of Animal Science*. 81:614.
- Olijhoek, D. W., P. Løvendahl, J. Lassen, A. L. F. Hellwing, J. K. Höglund, M. R. Weisbjerg, S. J. Noel, F. McLean, O. Højberg, P. Lund. 2018. Methane production, rumen fermentation, and diet digestibility of Holstein and Jersey dairy cows being divergent in residual feed intake and fed at 2 forage-to-concentrate ratios. *Journal of Dairy Science*. 101(11):9926-9940.
- Patience, J. F., M. C. Rossoni-Serão, N. A. Gutiérrez. 2015. A review of feed efficiency in swine: biology and application. *Journal Animal Science and Biotechnology*. 6:33.
- Perkins, S. D., C. N. Key, C. F. Garrett, C. D. Foradori, C. L. Bratcher, L. A. Kriese-Anderson, T. D. Brandebourg. 2014. Residual feed intake studies in Angus-sired cattle reveal a potential role for hypothalamic gene expression in regulating feed efficiency. *Journal of Animal Science*. 92(2):549-560.
- Pickering, N. K., V. H. Oddy, J. Basarab, K. Cammack, B. Hayes, R. S. Hegarty, J. Lassen, J. C. McEwan, S. Miller, C. S. Pinares-Patiño, Y. Haas. 2015. Animal board invited review: genetic possibilities to reduce enteric methane emissions from ruminants. *Animal*. 9:1431–1440.
- Ramírez-Lozano, R.G. 2007. Los pastos en la nutrición de rumiantes. UANL. México. 217 pp.
- Ramírez-Lozano, R. G. 2009. Nutrición de rumiantes: sistemas extensivos. 2a ed. México. Trillas. UANL. México. Págs. 11-35.
- Ramos, M. H., M. S. Kerley. 2013. Mitochondrial complex I protein differs among residual feed intake phenotype in beef cattle. *Animal Science*. 91:3299–3304.

- Richardson, E. C., R. M. Herd, J. A. Archer, P. F. Arthur. 2004a. Metabolic differences in Angus steers divergently selected for residual feed intake. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 44:441–452.
- Richardson, E. C., R. M. Herd. 2004b. Biological basis for variation in residual feed intake in beef cattle. 2. Synthesis of results following divergent selection. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 44:431–440.
- Richardson, E.C., Herd, R.M., Arthur, P.F., Wright, J., Xu, G., Dibley, K., Oddy, V.H., 1996. Possible physiological indicators for net feed conversion efficiency in beef cattle. *Proceedings Australian Society of Animal Production*. 21:103–106.
- Rius, A. G., S. Kittelmann K. A. Macdonald, G. C. Waghorn, P. H. Janssen, E. Sikkema. 2012. Nitrogen metabolism and rumen microbial enumeration in lactating cows with divergent residual feed intake fed high digestibility pasture. *Journal of Dairy Science*. 95:5024–5034.
- Rolfe, D. F. S., G. C. Brown. 1997. Cellular energy utilization and molecular origins of standard metabolic rate in mammals. *Physiological Reviews*. 77:731–758.
- Rolfe, K. M., W. M. Snelling, M. K. Nielsen, H. C. Freetly, C. L. Ferrell, T. G. Jenkins. 2011. Genetic and phenotypic parameter estimates for feed intake and other traits in growing beef cattle, and opportunities for selection. *Journal of Animal Science*. 89:3452–3459. doi: 10.2527/jas.2011-3961
- Russell, J. B., R. B. Hespell. 1981. Microbial rumen fermentation. *Journal Dairy Science*. 64(6):1153–69. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(81)82694-X
- Sainz, R. D., G. D. Cruz, E. Mendes, C. U. Magnabosco, Y. B. Farjalla, F. R. C. Araujo, R. C. Gomes, P. R. Leme. 2013. Performance, efficiency and estimated maintenance energy requirements of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. *In: Energy and protein metabolism and nutrition in sustainable animal production* (ed. J. W. Oltjen, E. Kebreab, H. Lapierre), pp. 69–70. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands.

- Sainz, R. D., P. V. Paulino. 2004. Residual Feed Intake. UC Davis: Sierra Foothill Research and Extension Center.  
Retrieved: <https://escholarship.org/uc/item/9w93f7k>.
- Sarghale, A. J., M. M. Shahrehabak, H. M. Shahrehabak, A. N. Javaremi, M. Saatchi, M. Khansefid, Y. Miar. 2020 . Genome-wide association studies for methane emission and ruminal volatile fatty acids using Holstein cattle sequence data. *BMC Genetics*. 21(1):1–4. doi: 10.1186/s12863-020-00953-0.
- Serão, N., D. Gonzalez-Peña, J. Beever, D. Faulkner, B. Southey, S. Rodriguez-Zas. 2013. Single nucleotide polymorphisms and haplotypes associated with feed efficiency in beef cattle. *BMC Genetics*, 14:94.
- Shabat, S. K. B., G. Sasson, A. Doron-Faigenboim, T. Durman, S. Yaacoby, M. E. Berg Miller, I. Mizrahi. 2016. Specific microbiome-dependent mechanisms underlie the energy harvest efficiency of ruminants. *The ISME Journal*. 10(12):2958-2972.
- Sharma, V. C., M. S. Mahesh, M. Mohini, C. Datt, V. M. Nampoothiri. 2014. Nutrient utilization and methane emissions in Sahiwal calves differing in residual feed intake. *Archives of Animal Nutrition*. 68(5):345-357.
- Sharma, V. K., S.S. Kundu, C. Datt, S. Prusty, M. Kumar, U. B. Sontakke. 2017. Buffalo heifers selected for lower residual feed intake have lower feed intake, better dietary nitrogen utilisation and reduced enteric methane production. *Animal Physiology and Animal Nutrition*. 102(12):e607–14.
- Shui, F., G. Qiu, S. Pan, X. Wang, T. Jiang, Z. Geng, S. Jin. 2023. Impact of divergence of residual feed intake on triglyceride metabolism-related gene expression in meat-type ducks. *Plos One*. 18(5):e0286051.
- Soleimani, T., H. Gilbert. 2020. Evaluación de los impactos ambientales de la selección para la ingesta de piensos residuales en cerdos. *Animal*. 14(12):2598-2608.
- Sun, H., W. Xu, T. Gu, J. Sun, C. Li, L. Chen, T. Zeng. 2023. Association of residual feed intake with intestinal microbiome and metabolome in laying period of ducks. *Frontiers in Microbiology*. 14:1138914.

- Swain, M., L. Blomqvist, J. McNamara, W. J. Ripple. 2018. Reducing the environmental impact of global diets. *Science of the Total Environment*. 610–611:1207-1209.
- Tedeschi, L. O., P. J. Kononoff, K. Karges, M. L. Gibson. 2009. Effects of chemical composition variation on the dynamics of ruminal fermentation and biological value of corn milling (co)products. *Journal of Dairy Science*. 92:401-413.
- Theodorou, M. K., J. France. 2005. Rumen microorganisms and their interactions. *In: J. Dijkstra, J. M. Forbes, and J. France, editors, Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*. 2nd ed. CABI, Wallingford, UK. p. 207–228.
- Tilley, J. M. A., R. A. Terry. 1963. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*. 18:104-111.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74(10):3583-3597.
- Vargas, J. E., G. Mejía, J. Bedoya, J. F. Gómez. 2013. Estimación de la técnica *in vitro* de gases frente a otras técnicas de digestibilidad. *Spei Domus*. 9(18):59-70.
- Wang, L., G. Zhang, Y. Li, Y. Zhang. 2020. Effects of high forage/concentrate diet on volatile fatty acid production and the microorganisms involved in VFA production in cow rumen. *Animals*. 10(2):223. <https://doi.org/10.3390/ani10020223>.
- Wang, Z., J. D. Nkrumah, C. Li, J. A. Basarab, L. A. Goonewardene, E. K. Okine, D. H. Crews, S. S. Moore. 2006. Test duration for growth, feed intake, and feed efficiency in beef cattle using the GrowSafe System. *Animal Science*. 84:2289–2298.
- Willems, O. W., S.P. Miller, B.J. Wood. 2013. Assessment of residual body weight gain and residual intake and body weight gain as feed efficiency

- traits in the turkey (*Meleagris gallopavo*). *Genetics Selection Evolution*. 45:26. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-45-26>.
- Williams, Y. J., J. E. Pryce, C. Grainger, W. J. Wales, N. Linden, M. Porker, B. J. Hayes. 2011. Variation in residual feed intake in Holstein-Friesian dairy heifers in southern Australia. *Dairy Science*. 94:4715-4725.
- Xie, Y., Z. Wu, D. Wang, J. Liu. 2019. Nitrogen partitioning and microbial protein synthesis in lactating dairy cows with different phenotypic residual feed intake. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 10:1-8.
- Yi, Z., X. Li, W. Luo, Z. Xu, C. Ji, Y. Zhang, Q. Nie, D. Zhang, X. Zhang. 2018. Feed conversion ratio, residual feed intake and cholecystokinin type A receptor gene polymorphisms are associated with feed intake and average daily gain in a Chinese local chicken population. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 9:50.
- Zhang, Y. K., X. X. Zhang, F. D. Li, C. Li, G. Z. Li, D. Y. Zhang, Q. Z. Song, X. L. Li, Y. Zhao, W. N. Wang. 2021. Characterization of the rumen microbiota and its relationship with residual feed intake in sheep. *Animal*. 15(3):100161.
- Zhou, M., E. Hernandez-Sanabria, L. L. Guan. 2009. Assessment of the microbial ecology of ruminal methanogens in cattle with different feed efficiencies. *Applied Environmental and Microbiology*. 75:6524–6533.