



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

Producción *in vitro* de intermediarios de la biohidrogenación y metano de oleaginosas forrajeras utilizadas en la alimentación de cabras y su influencia en la calidad nutricional de la leche

D. Luis Alberto Mejía Uribe
2022



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

Producción *in vitro* de intermediarios de la biohidrogenación y metano de oleaginosas forrajeras utilizadas en la alimentación de cabras y su influencia en la calidad nutricional de la leche

Autor: D. Luis Alberto Mejía Uribe

Director/es:

D. Ernesto Morales Almaráz

D. Ignacio Arturo Domínguez Vara

Da. Fuensanta Hernández Ruipérez



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR
Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19-10-2022

D./Dña. Luis Alberto Mejía Uribe

doctorando del Programa de Doctorado en

Doctorado en Ciencias Veterinarias

de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Murcia, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y titulada:

Producción *in vitro* de intermediarios de la biohidrogenación y metano de oleaginosas forrajeras utilizadas en la alimentación de cabras y su influencia en la calidad nutricional de la leche

y dirigida por,

D./Dña. Ignacio Arturo Domínguez Vara

D./Dña. Fuensanta Hernández Ruipérez

D./Dña. Ernesto Morales Almaráz

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Si la tesis hubiera sido autorizada como tesis por compendio de publicaciones o incluyese 1 o 2 publicaciones (como prevé el artículo 29.8 del reglamento), declarar que cuenta con:

- *La aceptación por escrito de los coautores de las publicaciones de que el doctorando las presente como parte de la tesis.*
- *En su caso, la renuncia por escrito de los coautores no doctores de dichos trabajos a presentarlos como parte de otras tesis doctorales en la Universidad de Murcia o en cualquier otra universidad.*

Del mismo modo, asumo ante la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada, en caso de plagio, de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Murcia, a 14 de diciembre de 2022

Fdo.:

Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser inscrita en la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor

Información básica sobre protección de sus datos personales aportados

Responsable:	Universidad de Murcia. Avenida teniente Flomesta, 5. Edificio de la Convalecencia. 30003; Murcia. Delegado de Protección de Datos: dpd@um.es
Legitimación:	La Universidad de Murcia se encuentra legitimada para el tratamiento de sus datos por ser necesario para el cumplimiento de una obligación legal aplicable al responsable del tratamiento. art. 6.1.c) del Reglamento General de Protección de Datos
Finalidad:	Gestionar su declaración de autoría y originalidad
Destinatarios:	No se prevén comunicaciones de datos
Derechos:	Los interesados pueden ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición, limitación del tratamiento, olvido y portabilidad a través del procedimiento establecido a tal efecto en el Registro Electrónico o mediante la presentación de la correspondiente solicitud en las Oficinas de Asistencia en Materia de Registro de la Universidad de Murcia



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

D. Ernesto Morales Almaráz, Profesor Titular de Universidad del Área de Producción Animal en el Departamento de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "Producción in vitro de intermediarios de la biohidrogenación y metano de oleaginosas forrajeras utilizadas en la alimentación de cabras y su influencia en la calidad nutricional de la leche", realizada por D. Luis Alberto Mejía Uribe, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 7 de octubre de 2022

A handwritten signature in blue ink, enclosed within a blue oval shape.



D. Ignacio Arturo Domínguez Vara, Profesor Titular de Universidad del Área de Producción Animal en el Departamento de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "Producción in vitro de intermediarios de la biohidrogenación y metano de oleaginosas forrajeras utilizadas en la alimentación de cabras y su influencia en la calidad nutricional de la leche", realizada por D. Luis Alberto Mejía Uribe, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 7 de octubre de 2022



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

D^a. Fuensanta Hernández Ruipérez, Catedrática de Universidad del Área de Producción Animal en el Departamento de PRODUCCIÓN ANIMAL, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "Producción in vitro de intermediarios de la biohidrogenación y metano de oleaginosas forrajeras utilizadas en la alimentación de cabras y su influencia en la calidad nutricional de la leche", realizada por D. Luis Alberto Mejía Uribe, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 7 de octubre de 2022

Firmante: FUENSANTA HERNANDEZ RUIPEREZ. Fecha-hora: 08/10/2022 14:07:03. Emisor de certificado: CN=AC FNMT Usuarios, OU=Ceres, O=FNMT-RCM, C=ES.



Mod-T-20

Código seguro de verificación: RUXFMrM4-Qsg+vzlG-oVwXwdKn-/KV0fyzp

COPIA ELECTRÓNICA - Página 1 de 1

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento administrativo electrónico archivado por la Universidad de Murcia, según el artículo 27.3 c) de la Ley 39/2016, de 1 de octubre. Su autenticidad puede ser contrastada a través de la siguiente dirección: <https://sede.um.es/validador/>

DEDICATORIAS

A mis padres que son un ejemplo de vida y que han sido un motivo para seguir adelante.

A la mujer que decidió compartir su vida conmigo y otorgarme la dicha de ser padre, te amo Lucero.

A mis tres hijos: Sofí, Abi y Rafa.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para realizar mis estudios de doctorado.

A la Universidad Autónoma del Estado de México por el financiamiento otorgado al proyecto de investigación: 4772-2017-CI UAEM.

A los Doctores Ernesto Morales Almaráz e Ignacio A. Domínguez Vara, por la asesoría para la realización del proyecto experimental, elaboración de artículos y tesis.

A la Dra. Fuensanta Hernández Ruipérez por su asesoría en la elaboración de tesis y artículos. Así como, por su hospitalidad durante mi estancia en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia.

CONTENIDOS

Contenido

RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
1. Forraje de canola (<i>Brassica napus</i>).....	6
1.1. Composición química y técnica de conservación del forraje de canola.....	6
1.2. Utilización del forraje de canola en la alimentación animal.....	9
2. Componentes bioactivos de las brassicas.....	9
2.1. Ácidos grasos.....	10
2.2. Glucosinolatos.....	10
3. Metabolismo de los lípidos en rumen.....	12
3.1. Factores que afectan la digestión ruminal de los lípidos.....	14
3.2. Microorganismos involucrados en la biohidrogenación ruminal.....	15
4. Síntesis de metano en rumen.....	18
4.1. Estrategias para inhibir la síntesis de metano en rumen.....	19
4.2. Utilización de las brassicas para mitigar la producción de metano.....	20
5. Métodos para medir la digestibilidad de los alimentos.....	21
5.1. Método <i>in vitro</i>	21
III. JUSTIFICACIÓN.....	25
IV. HIPÓTESIS.....	27
V. OBJETIVOS.....	29
General.....	29
Específicos.....	29
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
Experimento 1: Parámetros de fermentación ruminal y producción de metano <i>in vitro</i> de dietas completas mezcladas con diferentes niveles de inclusión de ensilado de canola.....	33
Experimento 2. Desempeño productivo, composición química y perfil de ácidos grasos de la leche de cabras alimentadas con dietas completas mezcladas con y sin ensilado de canola.....	38
Experimento 3: Efecto de los compuestos hidroalcohólicos del brócoli (<i>Brassica oleracea</i>) sobre las características de fermentación ruminal <i>in vitro</i>, producción de ácidos grasos volátiles y metano.....	41

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
Experimento 1: Parámetros de fermentación ruminal y producción de metano <i>in vitro</i> de dietas completas mezcladas con diferentes niveles de inclusión de ensilado de canola.	46
Experimento 2: Desempeño productivo, composición química y perfil de ácidos grasos de la leche de cabras alimentadas con dietas completas mezcladas con y sin ensilado de canola.....	57
Experimento 3: Efecto de los compuestos hidroalcohólicos del brócoli (<i>brassica oleracea</i>) sobre las características de fermentación ruminal <i>in vitro</i>, producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y metano.....	66
VIII. CONCLUSIONES GENERALES	72
IX. LITERATURA CITADA	75
X. ANEXOS.....	90
Anexo 1. Publicación en Memoria de Congreso Nacional. Avances de la investigación sobre producción animal y seguridad alimentaria en México.....	90
Anexo 2. Publicación en Memorias de Congreso Internacional.....	93
Anexo 3. Artículo publicado (primer experimento).	94
Anexo 4. Artículo publicado (segundo experimento).	95

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1	Composición química (g/kg ⁻¹ MS) de forraje fresco y ensilado de canola (<i>Brassica napus</i>).....	8
2	Composición de las dietas experimentales (g kg ⁻¹ MS) y aporte nutricional.....	34
3	Ingredientes de las dietas experimentales (g kg ⁻¹ MS) suministradas.....	39
4	Composición química (g kg ⁻¹ MS) de las dietas completas mezcladas con diferente proporción de ensilado de canola, así como de los forrajes de canola y de maíz.....	46
5	Efecto del nivel de inclusión de ensilado de canola sobre el contenido de ácidos grasos (g 100g AG) en dietas completas mezcladas.....	48
6	Efecto del nivel de inclusión de ensilado de canola sobre el valor de pH, NH ₃ -N, CH ₄ y los parámetros de fermentación ruminal <i>in vitro</i> ...	51
7	Coefficientes de correlación de Pearson entre variables de la composición química, digestibilidad <i>in vitro</i> y contenido de ácidos grasos de las dietas completas mezcladas con diferente proporción de ensilado de canola.....	55
8	Composición química (g kg ⁻¹ MS) y contenido de ácidos grasos de las dietas experimentales suministradas.....	58
9	Consumo de materia seca (kg d ⁻¹), producción de leche (kg d ⁻¹) y composición química (%) de la leche de cabras alimentadas con y sin ensilado de canola.....	59
10	Consumo de ácidos grasos (g d ⁻¹) de cabras alimentadas con y sin ensilado de canola en dietas completas mezcladas.....	61
11	Contenido de ácidos grasos (g 100g AG) de la leche de cabras alimentadas con y sin ensilado de canola en dietas completas mezcladas.....	63
12	Total de ácidos grasos según grado de saturación (g 100g AG) e índice de aterogenicidad y desaturaza en leche de cabras alimentadas con y sin ensilados de canola.....	64
13	Composición química de los ingredientes y sustrato experimental utilizados en las incubaciones <i>in vitro</i> (g kg ⁻¹ MS).....	66
14	Contenido de glucosinolatos y azúcares (mg mL ⁻¹) del extracto de brócoli (<i>Brassica oleracea</i>).....	67
15	Efecto del extracto hidroalcohólico de brócoli (<i>Brassica oleracea</i>) sobre la cinética de producción de gas, digestibilidad y producción de metano ruminal <i>in vitro</i>	68
16	Efecto de los niveles crecientes del extracto hidroalcohólico de brócoli (<i>Brassica oleracea</i>) sobre el contenido total y perfil de ácidos grasos volátiles (AGV) y pH del medio ruminal <i>in vitro</i>	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Representación esquemática de la hidrolisis enzimática de los glucosinolatos.....	11
2	Ruta de biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados (AGI): linoleico, linolénico y oleico.....	13
3	Función de <i>Butyrivibrio ssp</i> , <i>Propionibacterium acnés</i> y <i>Butyrivibrio proteoclasticum</i> sobre la biohidrogenación del ácido linoleico.....	16
4	Rutas metabólicas de la formación e inhibición del metano en el rumen.....	19

RESUMEN

Las brassicas como canola (*Brassica napus*) y brócoli (*Brassica oleracia*) son una importante alternativa forrajera para sustituir al ensilado de maíz en la alimentación de los rumiantes. Son buena fuente de nutrientes y componentes bioactivos, sin embargo, existe poca información sobre su inclusión en la dieta animal y sus efectos en la producción de metano (CH₄) y composición de la leche de cabras. Tres experimentos fueron llevados a cabo, dos estudios *in vitro* con el objetivo de evaluar diferentes porcentajes de inclusión (0, 15, 25, 35% base seca) de ensilados de canola (CS), y el efecto de los compuestos hidroalcohólicos del brócoli (0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.5 y 2.0% BS), sobre las características de fermentación ruminal y producción de CH₄; además, se realizó un estudio *in vivo* sobre la respuesta productiva y perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche cabras alimentadas con y sin ensilado de canola al final de la lactación. En el experimental *in vitro* el contenido de ácido linolénico (C18:3 *c9c12c15*) y heneicosanoico (C21:0) se incrementó en la ración (P<0.05) conforme aumentó el nivel de ensilado de canola en la dieta, contrario a lo observado con el ácido linoleico (C18:2 *c9c12*). La digestibilidad de la materia seca *in vitro* (DIVMS) y el pH, no mostraron diferencias (P>0.05) entre tratamientos. La digestibilidad *in vitro* de la fibra detergente neutro (DIVFDN) disminuyó (P<0.01) un 14.7% en el tratamiento CS35 en comparación con el tratamiento control. Los tratamientos CS35 y CS25 redujeron la producción de CH₄ a 24 h post incubación. Los ácidos grasos (FA) C18:3 *c9c12c15* y C18:2 *c9c12* tuvieron una correlación positiva (P<0.001) con la DIVFDN y la tasa de la fracción insoluble de la fibra (c_b). La producción de CH₄ tuvo una correlación negativa (P<0.001) con c_b y la tasa de la fracción soluble de la fibra (c_a), y una relación positiva (P<0.05) con la DIVMS. Por otro lado, en el experimento *in vivo*, las cabras alimentadas con ensilado de canola (25% BS) incrementaron (P<0.05) 25% la producción de leche, mientras el contenido de proteína, grasa y lactosa de la leche, el consumo de materia seca y el peso vivo no fueron afectados (P>0.05). Los AG de la leche (C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, C18:1 *c9* y C18:2 *c9c12*) no fueron afectados por la inclusión de ensilado de canola en la dieta de las cabras. Sin embargo, se observó un incremento (P<0.05) de 60 y 57%, sobre el contenido de ácido vaccénico (VAC) y ruménico (AR) en la leche, en comparación con la dieta sin ensilado de canola. La inclusión de ensilado de

canola no tuvo efecto ($P>0.05$) sobre el índice de aterogenicidad de la leche de cabra. Finalmente, en el experimento *in vitro* con extractos de brócoli, la inclusión de 1.5 y 2% de compuestos hidroalcohólicos en incubaciones *in vitro*, representó la mayor ($P<0.05$) producción de gas derivado de la fermentación de los carbohidratos rápidamente degradables. Contrariamente, la DIVMS disminuyó ($P<0.05$) con el extracto hidroalcohólico. La inclusión de 0 y 2% de compuestos hidroalcohólicos mostró una menor ($P<0.05$) producción de CH_4 (~24.7%) comparado con 0.75 y 1% de inclusión, estos tratamientos tuvieron mayor ($P<0.05$) producción de ácido acético. El ácido propiónico se incrementó ($P<0.05$) con la inclusión del extracto hidroalcohólico. Se concluye que la inclusión de ensilado de canola modifica el la fermentación ruminal *in vitro* y el perfil de AG de la leche de cabras.

Palabras clave: Ensilado de canola, brassicas, ácidos vaccénico y ruménico, cabras, glucosinolatos, fermentación *in vitro*.

ABSTRACT

Brassicas such as canola (*Brassica napus*) and broccoli (*Brassica oleracea*) are an important forage alternative to replace corn silage in ruminant feeding. They are a good source of nutrients and bioactive components; however, there is little information on their inclusion in the diet and effects on the production of methane (CH₄) and the composition of goat milk. Three experiments were carried out, which two *in vitro* studies with the objective of evaluating different inclusion levels (0, 15, 25, 35% dry basis) of canola silages (CS), and the effect of the hydroalcoholic compounds (0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.5 y 2.0% dry basis) of broccoli, on ruminal fermentation characteristics and CH₄ production in addition. A was made one *in vivo* study on the performance productive and milk fatty acid profile of goats fed with and without canola silage at the end of lactation. In the *in vitro* study linolenic acid (C18:3 c9c12c15) and heneicosanoic acid (C21:0) contents increased in the ration (P<0.05) as the level of canola silage in the diet increased, contrary to that observed with linoleic acid (C18:2 c9c12). *In vitro* dry matter digestibility (DIVMS) and pH did not show differences (P>0.05) between treatments. *In vitro* digestibility of neutral detergent fiber (DIVFDN) decreased (P<0.01) 14.7% in the CS35 treatment compared to the control treatment. The CS35 and CS25 treatments reduced CH₄ production at 24 h post-incubation. The fatty acids (FAs) C18:3 c9c12c15 and C18:2 c9c12 showed a positive correlation (P<0.001) with the DIVFDN and the rate of insoluble fraction of fiber (c_b). On the other hand, in the *in vivo* study, goats fed canola silage (25% dry basis) increased (P<0.05) 25% milk production, while the protein, fat and lactose content of milk, dry matter intake and live weight were not affected (P>0.05). The milk FAs (C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, C18:1 c9 and C18:2 c9c12) were not affected by the inclusion of CS in the diet of the goats. However, an increase (P<0.05) of 60 and 57% was observed on the content of vaccenic (VAC) and rumenic (RA) acids in milk, compared to the diet without CS. The inclusion of CS had no effect (P>0.05) the atherogenicity index of goat milk. Finally, in the *in vitro* study with broccoli extract the, inclusion of 1.5 and 2.0% hydroalcoholic compounds in *in vitro* incubations represented the highest (P<0.05) gas production derived from the fermentation of rapidly degradable carbohydrates. In contrast, DIVMS decreased (P<0.05) with the hydroalcoholic extract. The inclusion of 0 and 2.0% of hydroalcoholic compounds

showed a lower ($P<0.05$) production of CH_4 (~24.7%) compared to 0.75 and 1% of inclusion, these treatments had higher ($P<0.05$) production of acetic acid. Propionic acid increased ($P<0.05$) with the inclusion of the hydroalcoholic extract. It is concluded that the inclusion of canola silage modifies the *in vitro* ruminal fermentation and the fatty acids profile of goat milk.

Keywords: Canola silage, vaccenic and rumenic acids, goats, glucosinolates, *in vitro* fermentation

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

En años recientes, la mejoría nutrimental y funcional de los productos de rumiantes (leche y carne), con efectos benéficos a la salud humana, y reducción simultánea de la producción de gases de efecto invernadero, metano (CH₄) principalmente, ha sido el énfasis puesto en la nutrición animal. La leche de cabra, así como sus productos derivados, son considerados excelentes fuentes de nutrientes de alta calidad, particularmente de proteína y grasa (Park, 2017). Se ha demostrado que diferentes ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), presentes en la grasa de la leche, tienen efectos positivos en la salud humana (Salter, 2013), como prevenir enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Parodi, 1999). De esta forma, la manipulación de la dieta ha sido el principal factor para modificar el perfil de ácidos grasos en la leche, poniendo de manifiesto que el efecto es más marcado cuando se incluyen forrajes en la ración, los cuales contienen altos contenidos de ácido linolénico (C18:3 *c9c12c15*) y ácido linoleico (C18:2 *c9c12*) (Nudda *et al.*, 2020); por consiguiente, hay un incremento de ácidos grasos poliinsaturados en leche de las cabras.

En México, la principal fuente de forraje conservado, utilizado para la producción de leche en cabras y vacas, es el ensilado de maíz (EM). Sin embargo, este forraje presenta un elevado contenido de fibra detergente neutro (FDN) (>420 g kg⁻¹ MS) y bajo contenido de proteína (<80 g kg⁻¹ MS) (Schulz *et al.*, 2017a). Además, el cultivo presenta alto requerimiento de agua, una limitada época de siembra, así como baja tolerancia a cambios de temperatura (Khrosravi *et al.*, 2017). Por esta razón, se han buscado fuentes de forraje alternativas para la producción de leche. Al respecto, las oleaginosas forrajeras como la canola (*Brassica napus*), se presenta como un forraje de rotación (Kaur *et al.*, 2011; Reta-Sánchez *et al.*, 2015), el cual, al no competir con los forrajes convencionales como el propio maíz y avena, y usado como forraje conservado (heno o ensilado), puede aportar un contenido alto de proteína (>147g kg⁻¹ MS), contenido medio de FDN (<365 g kg⁻¹ MS) (Limón-Hernández *et al.*, 2019) y contenido medio, 2.39 Mcal kg⁻¹ MS de energía metabolizable (Reta-Sánchez *et al.*, 2015). Asimismo, el forraje de canola tiene alta digestibilidad de la MS (89%) (Barry, 2013; Villalobos y Brummer, 2015).

El forraje de canola (fresco y conservado ensilado), es buena fuente de AGPI, principalmente linolénico y linoleico (Williams *et al.*, 2016; Limón-Hernández *et al.*, 2019), ambos ácidos son esenciales y necesarios para la síntesis de ácido ruménico (AR; C18:2 *c9t11*) y ácido vaccénico (VAC, C18:1 *t11*) en rumen, debido a la extensa hidrogenación e isomerización, que las bacterias ruminales ejercen sobre aquellos AGPI de la dieta (Buccioni *et al.*, 2012). El AR es el principal isómero del conjunto de ácidos grasos que componen al ácido linoleico conjugado (CLA, por sus siglas en inglés); el AR puede ser sintetizado directamente en el rumen, o a partir del ácido vaccénico, a través de la actividad de la enzima delta-9 desaturasa en la glándula mamaria (Chilliard *et al.*, 2007; Bauman *et al.*, 2000). Estudios realizados, mayormente en modelos animales, han demostrado que el CLA posee efectos benéficos para la salud humana (Williams, 2000).

La ruta de la biohidrogenación ruminal de los AGPI incluye diferentes isómeros de C18, teniendo como punto final una reducción a ácido esteárico C18:0 (Harfoot y Hazlewood, 1988). Dicha biohidrogenación puede ser influenciada por el tipo de alimento ofrecido al animal, provocando una disminución o un aumento de ciertos ácidos sintetizados en rumen y, posteriormente, encontrados en la leche (Chilliard *et al.*, 2003; Sanz-Sampelayo *et al.*, 2007).

La utilización de ensilado de canola (EC) como un forraje alternativo, en sustitución al ensilado de maíz, ha sido poco estudiada (Williams *et al.*, 2016), sobre todo desde el punto de vista de su potencial para modificar el perfil de ácidos grasos en leche, con efecto benéfico para la salud humana. Kincaid *et al.* (2012) reportan que la producción y composición química de la leche no fueron afectadas cuando el ensilado de canola y chícharo, fueron incluidos como parte de la dieta de bovinos, sustituyendo al ensilado de maíz y heno de alfalfa, con una digestibilidad *in vitro* de 750 g kg⁻¹ de MS.

Mediante la manipulación de la dieta de los rumiantes, además de mejorar el perfil de AG en la grasa de la leche, las investigaciones hoy en día buscan identificar métodos eficientes para mitigar las emisiones de CH₄. Se considera que el CH₄ es el gas que más contribuye al efecto invernadero, producido por la ganadería. Asimismo, el CH₄ producido en rumen representa una pérdida de 2 a 12% de la energía presente en la dieta (Beauchemin *et al.*, 2008), ésta pérdida difiere según la composición de los nutrientes, tipo y procesamiento del

alimento, la digestibilidad (Patra y Yu, 2013) y la presencia de componentes secundarios como glucosinolatos y taninos en las plantas brassicas (Durmic y Blache, 2012). Por consiguiente, a través de una serie de reacciones químicas, acopladas para la síntesis de ATP, los microorganismos metanogénicos utilizan H_2 como resultado de la fermentación de los carbohidratos, para reducir el CO_2 a CH_4 (Jeyanathan *et al.*, 2013). En consecuencia, se requiere identificar componentes con potencial para modificar la fermentación ruminal y potencializar el uso de la energía, mediante la disminución de la producción de CH_4 en el rumen, evitando así su liberación al ambiente (Batta *et al.*, 2014). Recientes investigaciones han demostrado una disminución de la producción de CH_4 al incluir forraje de canola en la dieta de bovinos (Williams *et al.*, 2016) y ovinos (Sun *et al.*, 2015). En adición, la búsqueda de estrategias para mitigar la producción de CH_4 incluye seleccionar plantas con potencial para reducir la producción ruminal de CH_4 . La planta de brócoli (*Brassica oleracea*), que se genera como consecuencia de su cultivo para el consumo humano, es un subproducto que ha sido utilizado en la alimentación de rumiantes; esta, al igual que el resto de brassicas, contiene componentes secundarios (glucosinolatos, azúcares y polifenoles), que presentan un amplio rango de propiedades bioactivas, incluyendo el potencial para inhibir la producción de CH_4 en rumen (Durmic *et al.*, 2016; Sun, 2020). Tripathi y Mishra (2007), mencionan que el grupo y contenido de componentes bioactivos presentes en las brassicas varían según el cultivo, manejo agronómico y condiciones climáticas. Sin embargo, el brócoli (*Brassica oleracea*), no ha sido extensamente investigado, y se conoce poco sobre los efectos que tiene en la fermentación ruminal, así como su relación con la disminución de la producción de CH_4 . Esta tesis ha sido realizado en cotutela entre la Universidad Autónoma del Estado de México y la Universidad de Murcia, abordando el estudio de dos brassicas importantes en ambas zonas: la canola en México por su interés de utilización como forraje alternativo en sustitución al ensilado de maíz, y los subproductos del brócoli en la región de Murcia con una abundante producción y su uso en la alimentación de los rumiantes.

Con base en lo antes expuesto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar, a través de diferentes estudios, por un lado, el efecto del nivel de inclusión de ensilado de canola, en sustitución de ensilado de maíz, sobre: **i)** los parámetros de fermentación ruminal y producción de metano *in vitro*, y **ii)** la respuesta productiva, producción de intermediarios

de la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados, principalmente los ácidos vaccénico y ruménico, presentes en la leche de cabras; y por otro lado, **iii)** evaluar el efecto de extractos hidroalcohólicos, presente en la planta de brócoli (*Brassica oleracea*), sobre las características de fermentación ruminal y producción *in vitro* de metano.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. Forraje de canola (*Brassica napus*)

La planta de canola, tradicionalmente se ha cultivado para la producción de aceite y biodiesel en el mundo (Kincaid *et al.*, 2012). Por ejemplo, Canadá produce cerca de 20% de la producción mundial de canola (Neely *et al.*, 2015). En países como Nueva Zelanda y Australia, la canola se ha utilizado como cultivo de rotación y fuente de forraje para la alimentación de rumiantes en pastoreo (Barry, 2013). En México, por presentar una alta producción de MS, adaptabilidad a las épocas de otoño e invierno, alta eficiencia en la utilización del agua y nitrógeno, se ha utilizado como un forraje alternativo para cubrir los déficits durante las épocas de otoño e invierno (Reta-Sánchez *et al.*, 2015).

En México, la producción de forraje de canola es limitada, en años recientes se han realizado estudios sobre el uso de forrajes alternativos para la alimentación de rumiantes lecheros (Reta-Sánchez *et al.*, 2010; Reta-Sánchez *et al.*, 2015). Es así que uno de los cultivos sobresalientes ha sido la canola; este forraje se caracteriza por su alto aporte nutricional en cuanto a energía, proteína y digestibilidad, resistencia a escasez de agua y a climas fríos (otoño-invierno), es considerado como un cultivo alternativo o rotacional para sustituir o alternar con forrajes de avena o maíz, que tradicionalmente son los principales cultivos en México (Burbano *et al.*, 2018).

1.1. Composición química y técnica de conservación del forraje de canola

Para mantener la calidad nutrimental del forraje de canola se requieren condiciones óptimas para su crecimiento, entre ellas, nivel de fertilización, época de siembra (verano-invierno) y clima (García *et al.*, 2008). Al margen de esto, se ha reportado que las brassicas (*Brassica napus*) pueden llegar a tener un alto rendimiento en forraje (8 a 15 ton de MS ha⁻¹), en un período de 60 a 120 días posteriores a la siembra (Neely *et al.*, 2015).

El forraje de canola puede aportar un contenido de proteína cruda de 230 g kg⁻¹ MS, energía neta de lactancia 5.69 MJ kg⁻¹ MS y contenido medio de fibra detergente neutro (FDN) 398 g kg⁻¹ MS (Reta-Sánchez *et al.*, 2010). La composición química de los forrajes puede variar de acuerdo a las condiciones de desarrollo y manejo agronómico. Al respecto, Espinoza-Canales *et al.* (2017), evaluaron dos momentos de floración del forraje de canola; temprana (52 días post siembra) y tardía (89 días post siembra), reportando una disminución de hasta 52% del contenido de proteína (263.2 g kg⁻¹ MS vs 123.6 g kg⁻¹ MS), cuando el forraje fue cosechado en floración tardía. Además, la parte de la planta y la edad del forraje juega un importante papel en la composición bromatológica de esta; Kaur *et al.* (2011), evaluaron las hojas, peciolo y tallos de la planta de canola (*Brassica napus*) a diferentes semanas después de la siembra, reportando que a la semana 13 de la siembra el contenido de proteína fue superior en las hojas (322 g kg⁻¹ MS) con respecto a la peciolo (190 g kg⁻¹ MS) y tallo (160 g kg⁻¹ MS), en tanto que para FDN, los tallos mostraron el mayor contenido (441 g kg⁻¹ MS), concluyendo que a mayor edad declina la calidad del forraje.

Por otro lado, los forrajes de brassicas presentan alto contenido de humedad, de 80 a 95%, lo que puede ocasionar pérdidas de nutrientes si se desea conservar y utilizar como ensilado (Balakhial *et al.*, 2008). Debido a esto se requiere de un pre secado o la utilización de aditivos. Estudios recientes (Limón- Hernández *et al.*, 2019) evaluaron la adición de cuatro niveles (1, 2, 3, y 4 % base fresca) de melaza al ensilado de forraje de canola, observando que el contenido de MS de los ensilados se incrementó hasta 9% con el nivel más alto de melaza con respecto al control. Similar respuesta fue reportada por Balakhial *et al.* (2008) al utilizar 4 y 8% de melaza. Con la utilización de la melaza se pretende cumplir dos objetivos, ser utilizada como proveedora de energía a los microorganismos para desarrollar una fermentación láctica durante el proceso de ensilaje e incrementar la materia seca del ensilado (Cañeque y Sancha, 1998).

Una característica importante del forraje de canola es su aporte de proteína cruda, Sánchez-Duarte *et al.* (2011) reportaron un contenido de 240 g kg⁻¹ MS de proteína cruda cuando el forraje fue ensilado. Sin embargo, Limón-Hernández *et al.* (2019) obtuvieron niveles inferiores (147 g kg⁻¹ MS), bajo el mismo proceso de conservación del forraje (Cuadro 1).

Por lo cual, el contenido de proteína cruda del forraje es importante en la producción pecuaria, si consideramos que es uno de los nutrientes de mayor costo e importancia nutritiva.

Cuadro 1. Composición química (g kg⁻¹ MS) de forrajes fresco y ensilado de canola (*Brassica napus*), adaptado de Williams *et al.* (2016) y Limón-Hernández *et al.* (2019).

Nutriente	Forraje fresco	Forraje ensilado
MS	217	202
PC	203	143
FDN	202	365
FDA	140	206
MO	887	892
Ácidos grasos (g/100g AG)		
C18:1c9	2.23	5.41
C18:2 c9c12	7.30	10.70
C18:3 c9c12c15	25.10	38.10

C18:1 c9, ácido oleico; C18:2 c9c12, ácido linoleico; C18:3 c9c12c15, ácido linolénico.

Con anterioridad (Fales *et al.*, 1987) se reportaron estudios sobre los efectos del proceso de ensilaje en la composición química, principalmente sobre la presencia de metabolitos secundarios (glucosinolatos, nitrilos, sulfóxidos). Estos autores concluyen que el efecto del proceso de ensilaje es diferente sobre el contenido de metabolitos secundarios, sin embargo al ensilar el forraje de canola puede disminuir de 0.3 a 0.03% la concentración de glucosinolatos, probablemente debido al calor producido y reducción del pH durante el proceso de fermentación. Por lo cual, ésta disminución de los glucosinolatos tendría efecto benéfico sobre el animal al reducir el riesgo de intoxicación (Barry, 2013). Velasco *et al.* (2008) mencionan que la mayor concentración de estos metabolitos secundarios están presentes en la semilla *vs* hojas, por lo cual la madurez de la planta también es un factor determinante en el contenido de glucosinolatos en el forraje de canola.

1.2. Utilización del forraje de canola en la alimentación animal

El principal objetivo de cultivar canola (*Brassica napus*) es la producción de aceite para el consumo humano, y el subproducto (pasta de canola) se destina para la alimentación animal. Sin embargo, estudios recientes (Kincaid *et al.*, 2012) han demostrado que la planta entera puede ser utilizada como fuente de forraje para los rumiantes. En países como Nueva Zelanda y Australia su utilización ha tomado importancia como forraje de pastoreo de pequeños rumiantes en finalización durante la época de otoño-invierno (Barry, 2013). Además, el forraje de canola se ha utilizado como un complemento con otros forrajes. Al respecto, Kaur *et al.* (2010) en un estudio *in vivo* con ovinos, evaluaron el forraje de canola (*Brassica napus*) o trébol Persa (*Trifolium resipinatum*) en 10, 25 y 40 % MS de inclusión, en asociación con ensilado de maíz y raygrass; el forraje de canola disminuyó el consumo de MS respecto a los que consumieron las dietas que contenían trébol persa, sin embargo, no afectó la digestibilidad de la FDN, ni la síntesis de nitrógeno microbiano, concluyendo que se requiere de más estudios para verificar las posibles causas de la disminución del consumo de MS del forraje de canola. Barry (2013) mencionó que las brassicas como la col o el nabo contienen compuestos secundarios (sulfóxidos y glucosinolatos), que al ser fermentados en rumen, sufren un proceso de hidrólisis y sus metabolitos como S-dimetil-disulfuro, isotiocinatos y nitrilos, son potenciales depresores del consumo voluntario. Kincaid *et al.* (2012) evaluaron la incorporación de ensilado de canola en asociación con leguminosas, reemplazando al ensilado de maíz y heno de alfalfa en dietas completas mezcladas (TMR) para bovinos productores de leche. Así, con la inclusión de 9 y 15% de MS de ensilado de canola-chícharo, no encontraron diferencias en la producción y la composición química de la leche con respecto al control. Además, estos autores concluyen que el proceso de ensilaje y su inclusión a los porcentajes antes mencionados, reduce el riesgo de problemas metabólicos en el animal, ocasionados por los metabolitos secundarios.

2. Componentes bioactivos de las brassicas

Las brassicas contienen componentes bioactivos y metabolitos secundarios, estos últimos son utilizados como mecanismo de defensa hacia los insectos y adaptación a diferentes

ambientes, principalmente al factor temperatura (Barry, 2013). De acuerdo con Durmic y Blache (2012), los componentes bioactivos son aquellos compuestos capaces de provocar efectos farmacológicos o toxicológicos en humanos o animales.

2.1 Ácidos grasos

Hay poca literatura científica sobre la evaluación del contenido de ácidos grasos en el forraje de canola. En estudios recientes, Williams *et al.* (2016) al evaluar el forraje de canola para la alimentación de vacas en pastoreo, reportan un contenido de 7.3 g 100g AG de ácido linoleico y 25.1 g 100g AG de ácido linolénico; similares resultados fueron reportados por Limón-Hernández *et al.* (2019), quienes al ensilar forraje de canola con diferentes niveles de melaza obtuvieron valores de 10.7 g 100g AG de ácido linoleico y 38.1 g 100g AG de ácido linolénico, lo cual indica que estos ácidos pueden llegar a representar hasta 40% del total de los AG presentes en el forraje de canola.

2.2. Glucosinolatos

Los glucosinolatos son metabolitos secundarios naturales de la mayoría de la familia de las brassicas, a la que pertenecen la canola (*Brassica napus*) y el brócoli (*Brassica oleracea*), sus compuestos glucósidos y su grupo R son derivados de un aminoácido (metionina, fenilamina o triptófano), que puede ser alifático, aromático o indol (Velasco *et al.*, 2008). Típicamente llegan a producir entre 30 y 40 diferentes glucosinolatos (Halkier y Gerhenson, 2006), la concentración depende de la especie, la variedad y las condiciones ambientales en las cuales se desarrolla el cultivo (Tripathi y Mishra, 2007). Así, las concentraciones en el forraje de la planta pueden ser de bajos a moderados, en un rango de 1,000 a 3,000 ppm; sin embargo, las inflorescencias y las semillas presentan la mayor concentración de glucosinolatos (Burrows y Tyrl, 2013).

Se ha reportado que los glucosinolatos presentes en las brassicas deprimen el consumo de MS, disminuyen la absorción de yodo y cobre, y producen anemia (Barry, 2013). Los rumiantes son menos susceptibles a intoxicaciones (Tripathi y Mishra, 2007); la microflora del rumen induce la transformación de los glucosinolatos y/o sus metabolitos como isotiocinatos, tiocinatos, nitrilos y sulfatos (Figura 1). Así, el exceso de estos metabolitos provoca diferentes efectos en el animal, por ejemplo, los sulfatos pueden inhibir la

absorción del cobre y selenio, los tiocinatos están relacionados con la absorción de yodo y, como consecuencia, también una inhibición de la tiroxina (T_4), los nitrilos se han relacionado con daños hepáticos (Tripathi y Mishra, 2007; Bischoff, 2016).

En humanos, el consumo de glucosinolatos, se ha relacionado con la prevención de riesgos a padecer cáncer (Velasco *et al.*, 2008). Diferentes estudios epidemiológicos han demostrado que los glucosinolatos, principalmente los isotiocinatos, tienen efecto sobre la prevención de cánceres como el de vejiga, colon, pulmón (Huang *et al.*, 2018), diabetes tipo II, desórdenes neuronales e hígado graso (Chen *et al.*, 2016).

Además, diferentes investigaciones (Sun *et al.*, 2015; Williams *et al.*, 2016) han evaluado el posible efecto de los glucosinolatos sobre la producción de metano en rumen; sin embargo, los resultados son inconsistentes, ambos autores concluyen que la composición química de las brassicas son el factor más determinante para la producción de metano.

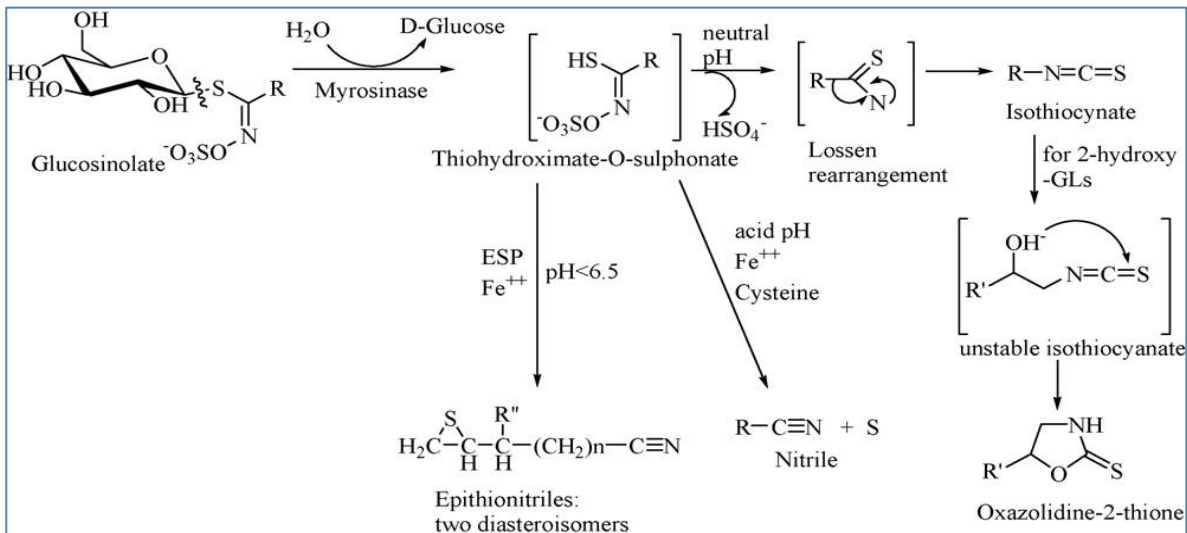


Figura 1. Representación esquemática de la hidrólisis enzimática de los glucosinolatos; Tomado de Tripathi y Mishra (2007).

3. Metabolismo de los lípidos en rumen

En los alimentos, los lípidos mayoritarios están representados por grasas y glucolípidos (McDonald *et al.*, 2011). Al ser consumidos por el animal sufren dos importantes transformaciones en el rumen: la lipólisis y la biohidrogenación (BH), ambos procesos efectuados por la población microbiana ruminal, originan ácidos grasos libres y glicerol (Buccioni *et al.*, 2012). Los lípidos contenidos en la dieta consumida por el animal son hidrolizados ampliamente por galactosidasas y fosfolipasas producidas por la flora ruminal (Jenkins, 1993). La bacteria *Anaerovibrio lipolytica*, es el mayor agente lipolítico en el rumen, esta bacteria produce dos enzimas hidrolíticas, una celulo-estereasa y una lipasa extracelular, con actividad sobre triglicéridos y ácidos grasos esterificados (Vilmar, 2011). También están involucrados en la lipólisis ruminal los protozoarios, sin embargo, la evidencia de su actividad lipolítica no es consistente debido a la poca investigación dirigida para conocer la lipólisis protozoaria (Laurenco *et al.*, 2010).

El proceso de biohidrogenación ruminal comprende diferentes vías y procesos, dependiendo de la dieta y ambiente ruminal. Los AG poliinsaturados representan cierto riesgo de toxicidad para muchos de los microorganismos del rumen (Harfoot y Hazlewood, 1997). Para protegerse de estos efectos tóxicos, los microorganismos del rumen tienen la capacidad de hidrogenar los ácidos grasos insaturados de la dieta (Harfoot y Hazlewood, 1997), en consecuencia, los AG de los productos de los rumiantes tienden a ser más saturados que aquellos de los animales no-rumiantes.

La biohidrogenación más estudiada y mejor conocida es la de los ácidos grasos poliinsaturados, mayoritarios en la fracción lipídica de los alimentos vegetales destinados para el ganado: ácidos linoleico y linolénico. Partiendo del ácido linoleico, dos reacciones tienen lugar en la primera etapa de BH; la primera, es una reacción de isomerización del doble enlace *cis*12 a *trans*11, por la enzima *cis*9 *trans*11 isomerasa o linoleato isomerasa; esta enzima conduce a la formación de uno de los isómeros mayoritarios del ácido linoleico conjugado, el C18:2 *c*9 *t*11 (Figura 2). Esta isomerización es extremadamente rápida (Kepler *et al.*, 1966). La segunda reacción es la reducción del C18:2 *c*9 *t*11 a C18:1 *t*11 o ácido vaccénico (Kepler *et al.*, 1966; Mills *et al.*, 1970; Noble *et al.*, 1974; Fellner *et al.*, 1995) y también C18:1 *c*11, en menor medida (Fellner *et al.*, 1995).

Cuando la reacción parte del ácido linolénico, sus dos isómeros *cis* (C18:3 *c9 c12 c15* o α -linolénico y C18:3 *c6 c9 c12* o γ -linolénico) son isomerizados en el doble enlace *cis* 12 a *t*11, seguido de una reacción de los dobles enlaces *cis* hasta la formación de C18:1 *t*11, C18:1 *c*15 o C18:1 *t*15. La segunda etapa de la BH convierte los isómeros C18:1 a ácido esteárico; esta etapa se realiza de una manera más lenta, por lo tanto, puede tener lugar en el rumen un incremento del producto intermedio, ácido vaccénico principalmente, que lo hace más disponible para ser absorbido en el intestino (Bauman *et al.*, 1999). Se ha observado que el ácido C18:1 *t*11 es el isómero *trans* predominante en la BH del ácido linoleico (Bauman y Griinari, 2001).

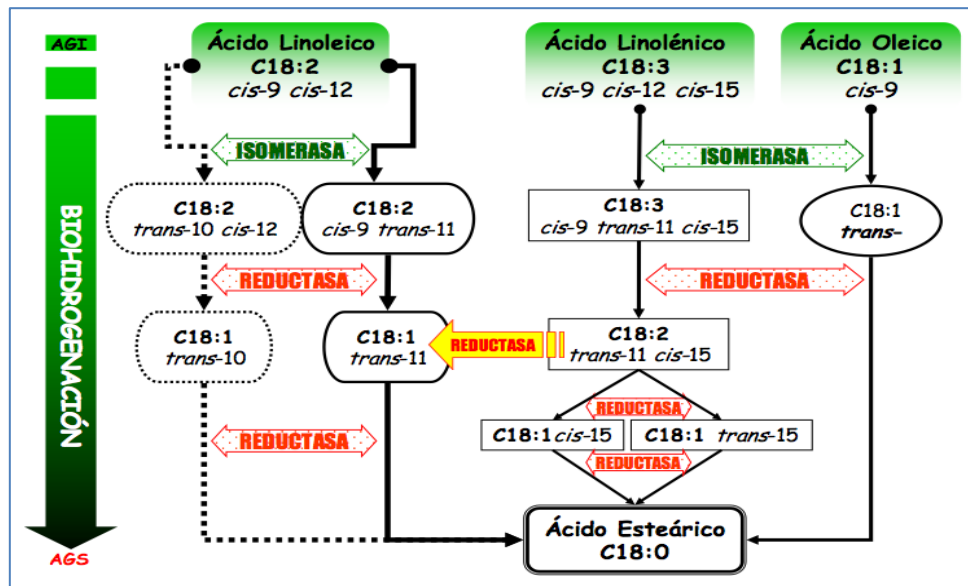


Figura 2. Ruta de biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados (AGI): linoleico, linolénico y oleico; adaptado de Morales-Almaráz (2009).

3.1. Factores que afectan la digestión ruminal de los lípidos

a) El pH

La actividad lipolítica en el rumen es más sensible a cambios de pH y puede ser responsable de la disminución de la aparente biohidrogenación cuando se ofertan dietas altas en concentrados (Mele *et al.*, 2008). Además, los isómeros *trans* C18:1 se incrementan cuando las dietas son altas en concentrado, indicando que la reducción del ácido C18:0 es afectado por el pH y/o los cambios en la población bacteriana.

Cuando el pH es de 6.8 a 5.2 en el fluido ruminal, existe una inhibición sustancial de la lipólisis, pero la biohidrogenación de los ácidos linoleico y linolénico no se altera notablemente hasta que el pH muestra niveles inferiores a 5.2, cuando el pH se mantiene con este valor, se obtiene 65% de la biohidrogenación del ácido linoleico y linolénico, sin embargo, con pH de 6.8, se obtiene 96% (Mele *et al.*, 2008).

b) La dieta

Los cambios en la población bacteriana del rumen son con frecuencia el resultado de la disminución del pH por el incremento en la producción de propionato (Van Soest, 1994), asociado a los cambios en la dieta rica en concentrados y pobre en fibra, lo que influye sobre las rutas de la biohidrogenación predominantes y en la formación de isómeros *trans* C18:1 producidos en el rumen y su contenido en la grasa de la leche (Griinari *et al.*, 1998).

Dietas altas en forraje, suministrado en forma de ensilado, con un largo tiempo de permanencia en rumen, pueden estimular en mayor grado la alta densidad de los microorganismos (Fonty y Grenet, 1994), excepto cuando la fuente de fibra esta finamente molida o cuando la dieta es suplementada con carbohidratos solubles.

Aunque la hidrogenación del ácido linoleico y linolénico en rumen son prácticamente completas, 85 y 90%, respectivamente, el grado de BH ruminal puede disminuir con el consumo de dietas ricas en concentrados (Doreau y Ferlay, 1994), lo cual está relacionado con cambios en la población bacteriana, causando una reducción de la BH en la conversión

de *trans* C18:1 a ácido esteárico (Van Nevel y Demeyer, 1996a) afectando la producción de la grasa en leche (Doreau, *et al.*, 1999). Algunas investigaciones demuestran que la proporción de forraje en la dieta es determinante en la composición de AG en la leche (Chilliard y Ferlay, 2004).

3.2. Microorganismos involucrados en la biohidrogenación ruminal

El entorno del rumen se caracteriza por tener una concentración de 10^{10} bacterias, 10^7 protozoarios y 10^6 de hongos por mL^{-1} de líquido ruminal, con un rango de pH de 6.0 a 6.7; cualquier desviación de estas condiciones puede influir en la población microbiana y sus productos de la fermentación (Buccioni *et al.*, 2012).

Evidencias experimentales indican que la bacteria *Butyrivibrio fibrisolvens* es una de las que tienen una alta capacidad de biohidrogenación (Bauman *et al.*, 1999; Maia *et al.*, 2010). Sin embargo, la biohidrogenación completa de los ácidos grasos insaturados depende de la actividad conjugada de más de una especie de bacterias ruminales (Buccioni *et al.*, 2012) (Figura 3). Jenkins (1993), menciona que la principal bacteria involucrada en el proceso de biohidrogenación es *B. fibrisolvens lipase*, principal bacteria que puede realizar la hidrogenación de los ácidos grasos insaturados.

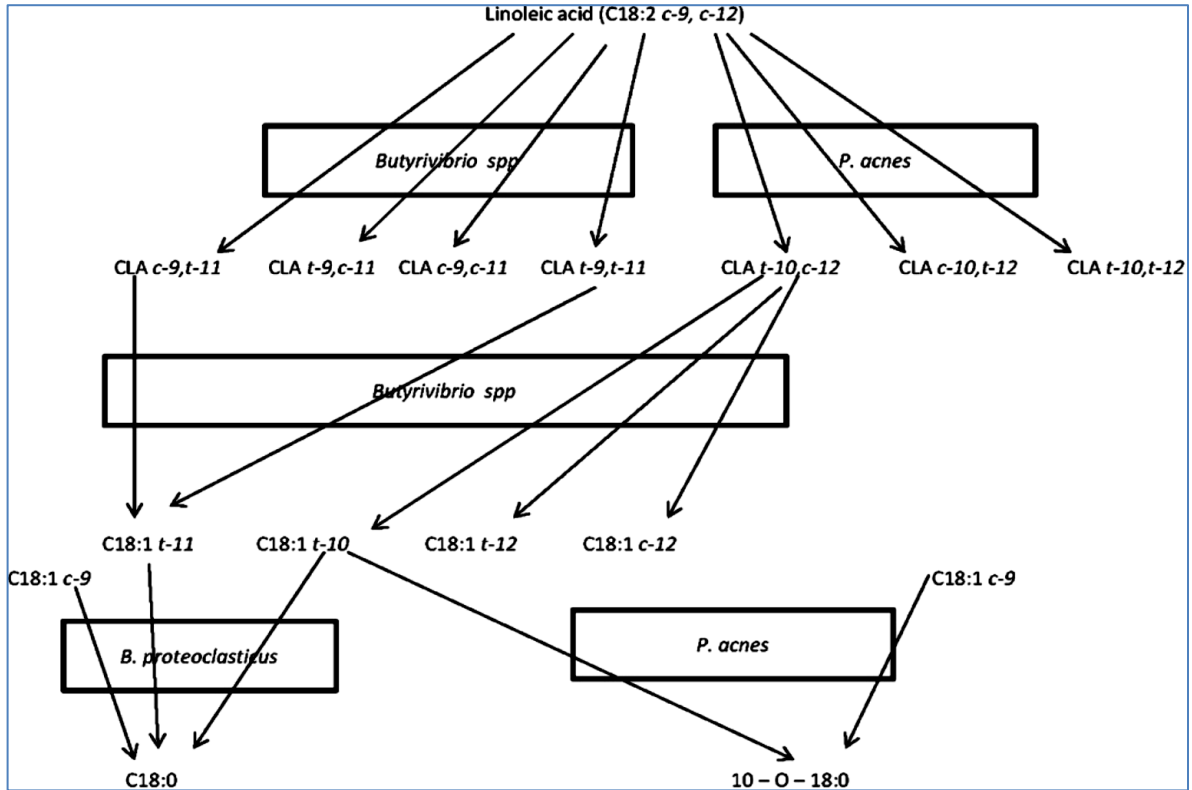


Figura 3. Función de *Butyrivibrio spp*, *Propionibacterium acnes* y *Butyrivibrio proteoclasticum* sobre la biohidrogenación del ácido linoleico: Adaptado de Wallace *et al.* (2006) y McKain *et al.* (2010).

En rumiantes, la alimentación con grandes cantidades de ácidos grasos polinsaturados, tiene el potencial de inhibir la fermentación ruminal, y por ende, reducir la concentración de bacterias y protozoarios presentes en rumen (Yang *et al.*, 2009).

El efecto negativo de la suplementación con AGI sobre los parámetros de fermentación ruminal se explica por la reducción de bacterias celulolíticas. Al respecto, Yang *et al.* (2009) mencionan que el ácido linoléico es el más potente reductor de la concentración de estas bacterias, comparado con el ácido linoleico.

Según Jenkins *et al.* (2008), los protozoos, al fagocitar bacterias, inhiben el último paso de la BH, mientras que hay una actividad considerable de las reacciones de isomerización y reducción del primer paso, resultando en la formación de C18:2 c9 t11, manteniendo la presencia de ácido linoleico, pero disminuye la formación de C18:0. Esto tiene implicaciones importantes para la función de los protozoos en el flujo de C18:2 c9 t11 y

C18:1 *t*11 desde rumen. La disponibilidad de estos ácidos para la absorción intestinal por el animal hospedador podría depender del flujo de protozoos desde rumen más que el de las mismas bacterias. Yáñez-Ruíz *et al.* (2006) observaron que el flujo de AG de origen protozoario al duodeno de terneros fue de 30 a 43% de C18:2 *c*9 *t*11 y de 40% de C18:1 *t*11. Así, los protozoarios, por sí mismos, no producen C18:2 *c*9 *t*11 ni C18:1 *t*11, sin embargo, tienen gran influencia significativa sobre los flujos de C18:2 *c*9 *t*11 y C18:1 *t*11, disponible para el animal hospedador.

Algunos ácidos grasos *trans*, formados como intermediarios de la BH de los AGI por las bacterias ruminales, han sido descritos como uno de los factores que desencadenan el síndrome de depresión de la grasa (MFD) (Davis y Brown, 1970). Así, el ácido linoleico puede ser isomerado por la *trans*10 *cis*12 isomerasa en lugar de la *cis*9, *trans*11 isomerasa, dando lugar al isómero C18:2 *t*10 *c*12, caracterizado por sus efectos negativos sobre la grasa en leche (Bauman *et al.*, 1999). La intervención de los ácidos grasos *trans*, en este trastorno, ha sido observado más frecuentemente con dietas con aceites de plantas o pescado (Bauman y Griinari, 2001), también se ha relacionado con el incremento de *trans* C18:1 en la grasa de la leche en un amplio rango de dietas (Griinari *et al.*, 1995).

La vía alternativa de la BH del ácido linoleico para formar C18:1 *t*10 comienza con una isomerización del doble enlace *cis*9 para formar C18:2 *t*10 *c*12, seguido por una reducción del doble enlace *cis*12 para dar C18:1 *t*10 (Figura 2). El isómero C18:2 *t*10 *c*12 del ácido linoleico conjugado normalmente está presente en la grasa de la leche pero en concentraciones muy bajas (<0.06% del total de AG) y representa <2% del total de isómeros del ácido linoleico conjugado (Bauman *et al.*, 2000). El efecto negativo del isómero del ácido linoleico conjugado C18:2 *t*10 *c*12 sobre la inducción del MFD, además de estar asociado con el desarrollo de acidosis ruminal, se ha observado que disminuye la expresión de genes que codifican las enzimas relacionadas con el contenido de grasa en leche, incluyendo la síntesis de AG de *novo* en la glándula mamaria, principalmente por la reducción de ácidos grasos de cadena corta y media (Bauman y Griinari, 2001), y la desaturación de AG por acción de la enzima Δ 9-desaturasa (Baumgard *et al.*, 2002).

4. Síntesis de metano en rumen

Mediante el proceso de fermentación de los carbohidratos se producen ácidos grasos volátiles (AGV): acetato, propionato y butirato, principalmente (Vilmar, 2011), que son utilizados como fuente de energía por los microorganismos del rumen, mientras otros compuestos como el dihidrógeno (H_2) y el dióxido de carbono (CO_2), productos de la misma fermentación, son utilizados por las bacterias metanogénicas del género *Archaea* para la producción de CH_4 . El acetato y el butirato son nutrientes lipogénicos y son fuentes de H_2 disponible, mientras que la formación de propionato es una ruta competitiva para utilizar esos H_2 disponibles en el rumen (Van Nevel y Demeyer, 1996b). Por lo cual, se genera una competencia por la utilización del H_2 y CO_2 originados por la actividad fibrolítica de las bacterias, hongos y protozoarios para la formación de CH_4 . Así, dependiendo del sustrato utilizado, Liu y Whitman (2008) mencionan que los microorganismos metanógenos se clasifican en tres grupos:

- 1). Metanógenos hidrogenotrofos: utilizan H_2 y formato para reducir el CO_2 . Las bacterias acetogénicas son las principales y utilizan el H_2 para reducir el CO_2 a acetato, que es absorbido por el animal y utilizado como energía.
- 2). Metanógenos metilotrofos: su principal sustrato son los compuestos metílicos a partir de metanol, y oxidan parcialmente al CO_2 , se reducen los grupos metilo y se genera el CH_4 .
- 3). Metanógenos acetotrofos: son arqueas anaerobias facultativas que convierten el acetato mediante la disimilación del grupo metilo en CH_4 y CO_2

De acuerdo con Kumar *et al.* (2014), la formación del metano es un proceso fisiológico normal que contribuye al correcto funcionamiento fermentativo del rumen, contrarrestando la inhibición de otros microorganismos causado por la acumulación de H_2 .

4.1. Estrategias para inhibir la síntesis de metano en rumen

Varias estrategias mediante técnicas *in vivo* e *in vitro* se han usado para reducir la producción de metano en rumiantes. La producción de CH₄ depende, en gran medida, del nivel de ingesta de alimento y composición de la dieta, particularmente el tipo de carbohidratos presentes en ella (Bauchemin *et al.*, 2009). Knapp *et al.* (2014) mencionan que los estudios para bajar las emisiones de metano se basan principalmente en tres ejes:

- a) Manejo de la alimentación, enfocado a disminuir la producción de acetato y aumentar la síntesis de propionato como fuente de energía.
- b) Modificadores en rumen, dirigido a reducir las bacterias metanogénicas y selección de animales a través de la genética (Figura 4).

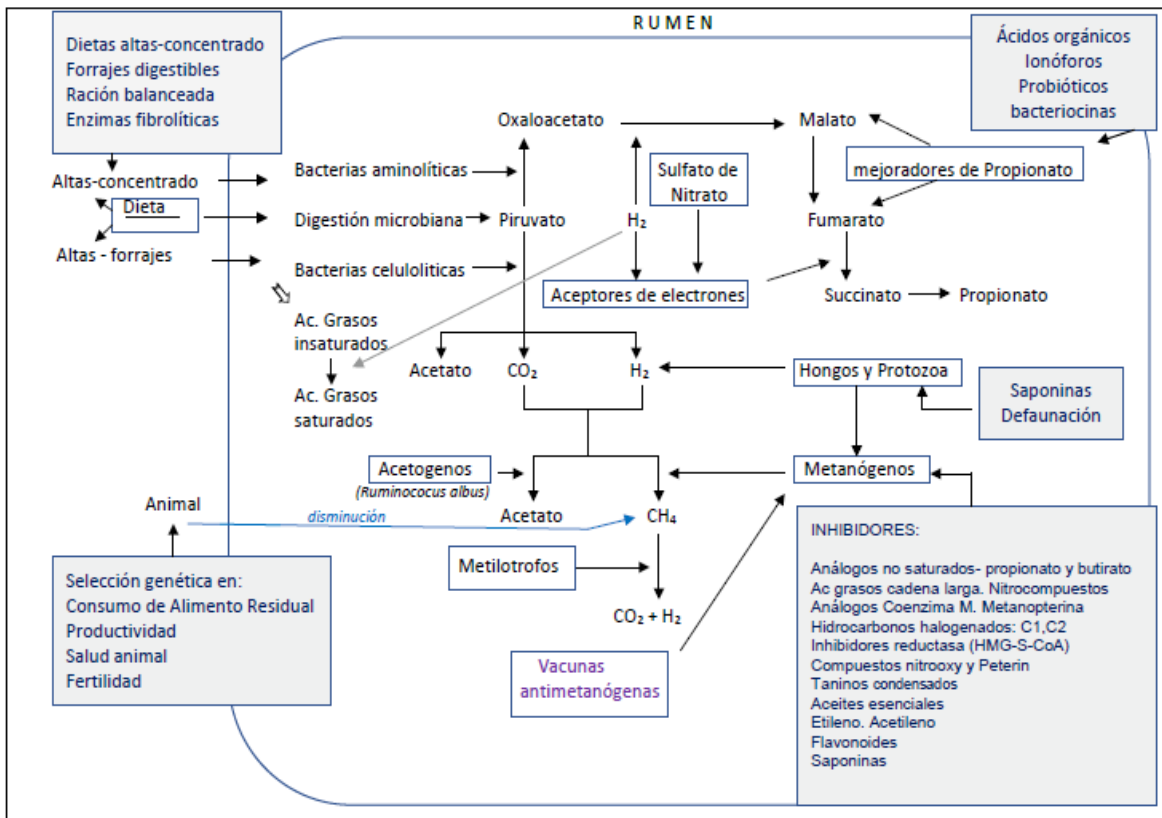


Figura 4. Rutas metabólicas de la formación e inhibición de metano en rumen: Tomado de Rámirez-Bibriesca (2018).

c) El manejo en la alimentación ha sido el principal eje para la disminución de la producción de metano, centrándose en la formación de ácidos grasos volátiles en rumen. El reemplazo de carbohidratos estructurales (hemicelulosa y celulosa), por carbohidratos no estructurales (almidón) en la dieta, produce un cambio en el patrón de producción de ácido acético a propiónico, generando una reducción en la producción de metano (Bauchemin *et al.*, 2008).

Una segunda opción es la utilización de componentes secundarios. Las plantas producen metabolitos secundarios, usados para modificar la fermentación ruminal con el objetivo de inhibir la actividad de las bacterias metanogénicas (Bodas *et al.*, 2012). Los metabolitos más estudiados han sido los taninos (Bhatta *et al.*, 2009), los aceites esenciales (Patra y Yun, 2013), obteniendo resultados positivos en la disminución de la producción de metano. Sin embargo, pocos trabajos han evaluado el efecto de los glucosinolatos (Sun *et al.*, 2015; Williams *et al.*, 2016) sobre la producción de metano, debido a esto se conoce poco del efecto de estos compuestos sobre el crecimiento y metabolismo de bacterias metanogénicas.

4.2. Utilización de las brassicas para mitigar la producción de metano

La ganadería es considerada uno de los principales sectores de la producción de gases de efecto invernadero en el mundo. El metano es considerado el segundo gas causante del efecto invernadero, y los rumiantes contribuyen aproximadamente con 6% del metano antropogénico global (Bauchemin *et al.*, 2020).

Varios autores (Johnson y Johnson 1995; Bauchemin *et al.*, 2008) mencionan que la formación del CH₄ en rumen, representa una pérdida que varía de 2 a 12% de la energía bruta consumida por el animal, ocasionando una ineficiencia en la utilización de la energía por los microorganismos del rumen.

La utilización del forraje de canola para disminuir la producción de metano ha sido estudiada por Sun *et al.* (2015). Estos autores realizaron un estudio *in vivo* en ovinos alimentados con forraje de canola o raygrass, observando que la producción de metano disminuyó 24% cuando los ovinos fueron alimentados con forraje de canola con respecto al raygrass (11.7 vs 15.4 g d⁻¹ de CH₄). En otro estudio *in vitro* con forraje de canola ensilado, Limón-Hernández *et al.* (2019), no encontraron diferencias en la producción de CH₄ cuando

se agregó melaza (0 a 4% BH) al forraje. Se ha hipotetizado que el contenido de glucosinolatos en las brassicas son los responsables de la disminución de la producción de metano, sin embargo los resultados son inconsistentes (Dillard *et al.*, 2018). Así, lo más aceptado ha sido en relación a la composición química de las brassicas, con bajo contenido de FDN y alto contenido de carbohidratos solubles. Sun *et al.* (2015) mencionan que una menor cantidad de bacterias que degradan la fibra (*Fibrobacter spp* y *Ruminococcaeae*), cuantificadas en ovinos que fueron alimentados con forraje de canola, podría estar relacionado con la menor concentración de carbohidratos estructurales presentes en el forraje de canola y que a su vez resulta en una menor producción de acetato e H₂, este último considerado el principal sustrato para la formación de metano en rumen.

5. Métodos para medir la digestibilidad de los alimentos

El conocimiento del valor nutritivo de los alimentos es fundamental para la nutrición, considerando que es el factor más importante que influye en la respuesta productiva del animal (McDonalds *et al.*, 2011); este parámetro se refiere a la cantidad de nutrientes absorbidos, por lo que las pruebas de digestibilidad permiten estimar la proporción de nutrientes presentes en una ración que pueden ser absorbidos por el sistema digestivo y que son potencialmente disponibles para el animal.

En las pruebas de digestibilidad *in vivo*, para determinar el valor nutritivo de un alimento se requiere varios animales, dado que aun siendo de la misma especie, raza, sexo y edad, difieren en sus procesos digestivos y, además, porque la replicación permite detectar errores en las pruebas de medición. En adición, la técnica de producción de gas *in vitro* ha sido ampliamente utilizada para la evaluación de los efectos de la fermentación ruminal de los diferentes alimentos utilizados en rumiantes (Nagani *et al.*, 2000).

5.1 Método *in vitro*

La técnica de producción de gas *in vitro* ha sido utilizada para la evaluación de la calidad nutricional de los alimentos utilizados en la alimentación de los rumiantes desde mediados

del siglo XX (Crosby y Ramírez, 2018). En años recientes ha ganado aceptabilidad debido a su máxima repetitividad y una disminución en el uso de animales. Debido a esto se ha posicionado como una herramienta de investigación que tiene un alto potencial de aplicación (Getachew *et al.*, 2005). Esta técnica ha sido empleada para cuantificar la producción de CH₄, ya sea mediante la utilización de un analizador de gases portátil o por la utilización de cromatografía de gases. A lo cual, se ha mencionado que ambas técnicas han resultado útiles para predecir y/o cuantificar el CH₄ producido por los alimentos utilizados en la alimentación de los rumiantes (Crosby y Ramírez, 2018), mostrando ventajas y desventajas que deben ser consideradas.

Durante décadas, la técnica *in vitro* ha sido la adecuada para observar y explicar las interacciones digestivas llevadas a cabo en el rumen, siendo una herramienta rápida y rentable comparada con la técnica *in vivo*. El método tiene como objetivo imitar el proceso que ocurre en rumen y se basa en la estrecha asociación entre la fermentación de los componentes de los alimentos y su producción de gas acumulativa (Niderkorn y Baumont, 2009).

De acuerdo con Schofield y Pell (1995), la técnica de producción de gas *in vitro* permite determinar la digestibilidad de los forrajes, así como la cinética de degradación microbiana del alimento a través del volumen de gas producido durante el proceso fermentativo. De esta manera, la técnica de producción de gas *in vitro* es un proceso de análisis de la fermentación y degradación de las fracciones solubles (carbohidratos) e insolubles (fibras), de la materia orgánica presentes en los forrajes y alimentos, esto debido a la actividad de microorganismos anaerobios presentes en el líquido ruminal. Por consiguiente, Blümmel *et al.* (1997) mencionan que al degradarse los componentes de los alimentos, se generan productos de la fermentación como dióxido de carbono (CO₂), gas metano (CH₄), hidrógeno (H₂) y ácidos grasos volátiles (Palmer *et al.*, 2005). Por lo cual, el gas que se genera es producto de la fermentación de los carbohidratos, de modo similar, las proteínas también pueden producir gas, sin embargo, la cantidad es relativamente pequeña, y, el gas derivado a partir de la grasa es insignificante (Posada y Noguera, 2005).

La técnica de producción de gas emplea sustratos molidos, una saliva artificial en condiciones anaerobias, temperatura de 39°C e inóculo ruminal; esta técnica mide el

volumen de gas a presión atmosférica constante. Los perfiles de producción de gas obtenidos pueden estimarse con diferentes ecuaciones para resumir la información de cinética (Crosby y Ramírez, 2018).

Nagani *et al.* (2000) mencionan algunos factores que afectan la producción de gas; el tipo de sustrato e inóculo, la especie animal donadora del inóculo y su alimentación, el pH del medio y del tampón empleado. Sus mayores limitaciones son el hecho de que la muestra no ha sufrido un proceso de masticación y rumia.

III. JUSTIFICACIÓN

III. JUSTIFICACIÓN

En años recientes, se ha mostrado gran interés por utilizar la canola (*Brasica napus*) como forraje conservado para la alimentación de rumiantes, debido a su contenido de proteína, bajo contenido de fibra detergente neutro y facilidad para ser ensilada. Además, es considerado un cultivo de rotación que no tiene interferencia con cultivos convencionales como el maíz. Sin embargo, poca información se ha generado acerca del uso de ensilado de canola, como fuente de forraje alternativa, y más aún en sustitución de ensilado de maíz para cabras en lactación. Por otro lado, es conocido que el factor más importante que ha sido objeto de investigaciones para incrementar el contenido de componentes bioactivos en los productos de origen animal es la manipulación de la dieta. En rumiantes, el forraje es un alimento crucial dentro de su dieta, por ello existe la necesidad de evaluar forrajes alternativos con potencial para modificar la fermentación ruminal y una mejora en la utilización de la energía, evitando pérdidas en forma de metano. Por consiguiente, la utilización del forraje de canola conservado en forma de ensilado en la alimentación de los rumiantes, se muestra como una fuente de ácidos grasos polinsaturados (ácido linolénico y ácido linoleico), proteína y energía que podría mejorar la calidad nutricional de la leche. Además, al incluirse como parte de una ración completa mezclada se reduce la presencia de problemas metabólicos que ocurren comúnmente con el pastoreo directo del forraje de canola; también se ha verificado que puede disminuir la producción de metano *in vitro*. En adición, debido a la presencia de metabolitos secundarios presentes en el forraje de las brassicas; estos han demostrado tener la eficiencia de modular el crecimiento de bacterias metanogénicas. En relación a este tema, la técnica de producción de gas *in vitro* ha sido utilizada para observar y explicar las interacciones digestivas que ocurren en el rumen. Además, es una herramienta de bajo costo que utiliza pocos animales donadores de fluido ruminal y, a través de ella, se pueden evaluar un número ilimitado de alimentos facilitando la medición de parámetros ruminales que ayudan a conocer la calidad y valor nutricional de un forraje.

IV. HIPÓTESIS

IV. HIPÓTESIS

El ensilado de canola, usado como fuente de ácidos grasos polinsaturados de cadena larga, promueve el aumento de los intermediarios de la biohidrogenación durante la fermentación *in vitro*, especialmente la concentración del ácido vaccénico, así como la disminución de la producción de metano, sin efectos negativos sobre las variables de fermentación ruminal.

La inclusión de ensilado de canola en la dieta de cabras en lactación mejora el perfil de ácidos grasos de la leche, incrementando la concentración de los ácidos grasos insaturados, con mayores contenidos de ácido linoleico conjugado y de ácido vaccénico, sin afectar el consumo de alimento, así como la producción y composición química de la leche.

Los compuestos hidroalcohólicos presentes en la planta de brócoli (*Brassica oleracea*) disminuyen la producción de metano bajo condiciones *in vitro*, sin efectos negativos sobre las características de fermentación ruminal.

V. OBJETIVOS

V. OBJETIVOS

General

Evaluar el uso de dos brassicas, uno como forraje de ensilado de canola (*Brassica napus*) y otro enfocado a la concentración compuestos hidroalcohólicos del brócoli (*Brassica oleracea*), sobre las características de fermentación ruminal, la producción de metano *in vitro*, así como la producción *in vitro* de intermediarios de la biohidrogenación de ácidos grasos poliinsaturados, la respuesta productiva y perfil de ácidos grasos de la leche de cabras alimentadas a base de dietas completas mezcladas con diferentes niveles de ensilado de canola, asociado con ensilado de maíz.

Específicos

- Determinar las características de la fermentación ruminal: producción de gas, pH, nitrógeno amoniacal, digestibilidad *in vitro* de la materia seca y composición química de dietas completas mezcladas con diferentes niveles de inclusión de ensilado de canola (*Brassica napus*).
- Estimar la producción *in vitro* de metano de dietas completas mezcladas con diferentes niveles de inclusión de ensilado de canola (*Brassica napus*).
- Determinar la producción *in vitro* de los intermediarios de la biohidrogenación de los ácidos grasos poliinsaturados de dietas completas mezcladas con diferentes niveles de inclusión de ensilado de canola (*Brassica napus*).
- Evaluar la respuesta productiva, consumo de alimento, producción y composición de la leche y cambio de peso corporal de cabras multíparas al final de la lactación, alimentadas con dietas completas mezcladas con y sin ensilado de canola (*Brassica napus*).
- Determinar el perfil de ácidos grasos de alimentos y leche de cabras al final de la lactación alimentadas con dietas completas mezcladas con y sin ensilado de canola (*Brassica napus*).
- Medir el efecto de diferentes porcentajes de inclusión (0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5 y 2.0%) de compuestos hidroalcohólicos del brócoli (*Brassica oleracea*) sobre las

características de fermentación ruminal, así como la producción de metano en incubaciones *in vitro* en un sustrato a base de heno de alfalfa y grano de cebada.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevaron a cabo dos experimentos con ensilado de canola. En el primer experimento se determinó la cinética de producción de gas, digestibilidad, nitrógeno amoniacal y producción de metano de dietas TMR con cuatro niveles de inclusión de ensilado de canola mediante la técnica de producción de gas *in vitro*. En el segundo experimento se evaluó el consumo de alimento, cambio de peso vivo, producción y composición química de la leche, así como el perfil de ácidos grasos en la leche de cabras al final de la lactación, consumiendo dietas completas mezcladas con y sin ensilado de canola. Un tercer experimento fue realizado, se evaluaron diferentes niveles de inclusión de extractos hidroalcohólicos de brócoli (*Brassica oleracea*) sobre la producción de gas, digestibilidad de la MS, producción de ácidos grasos volátiles, producción de CH₄ bajo condiciones *in vitro*.

Área de estudio

La presente investigación (experimentos 1 y 2) se realizó en las instalaciones del Departamento de Nutrición Animal en los laboratorios de Bromatología y Metabolismo, y en el Área de Investigación y Docencia en Producción Animal, Coordinación de Producción, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, ubicada en el Campus Universitario “El Cerrillo”, Toluca México, a una longitud de 19° 24' 48'', latitud de 99° 40' 45'', con una altura de 2632 metros sobre el nivel del mar (INEGI, 2020). El tercer experimento se realizó en el Departamento de Nutrición Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, España.

Establecimiento del cultivo

La canola (*Brassica napus* var Monty) fue sembrada el día 15 de octubre de 2017, con una densidad de siembra de 6 kg/ha, se fertilizó con nitrógeno a una dosis de 100 kg/ha. Se realizaron dos riegos a los 80 y 120 días posteriores a la siembra.

Elaboración de microsilos

El forraje de canola fue cosechado a los 148 días posteriores a la siembra, posteriormente fue picado a un tamaño de partícula de 10 mm con una picadora de forraje marca Swissmex modelo SW610500. Se agregó melaza (4% base fresca. 1:1, p/v) para una mejor ensilabilidad del material fresco. Posteriormente, se elaboraron microsilos en tubos de PVC de 10.2 cm de diámetro por 20 cm de largo, el forraje fue compactado de forma manual con una prensa a manera de pistón. Los microsilos fueron sellados con bolsas de plástico y cinta adhesiva.

Experimento 1: Parámetros de fermentación ruminal y producción de metano *in vitro* de dietas completas mezcladas con diferentes niveles de inclusión de ensilado de canola.

Dietas experimentales

Los microsilos fueron abiertos a los 28 días posteriores al proceso de sellado. Se evaluaron en incubaciones *in vitro*, tres niveles de inclusión de ensilado de canola (EC) y una dieta control sin inclusión de EC (Cuadro 2), en sustitución del ensilado de maíz: 0, 15, 25 y 35% (CS0, CS15, CS25 y CS35, respectivamente), estas inclusiones fueron consideradas como parte del 60 % de forraje, más un concentrado (40%) para tener una relación F:C de 60:40 de la dieta total mezclada, la cual cubrió las necesidades energéticas y proteicas de cabras en lactación (2.58 Mcal EM kg⁻¹ MS y 16.5% PC; NRC, 2007).

Análisis de laboratorio

En las dietas experimentales se realizó el análisis químico proximal acorde con el AOAC (2012). La materia seca por desecación de la muestra en estufa de aire forzado a 102°C por 24 h, para no subestimar pérdidas por compuestos volátiles, el resultado fue ajustado por un factor de corrección de 1.08 (Dulphy y Demarquilly 1981); para el resto del análisis proximal, las muestras fueron previamente secadas a 55 °C, posteriormente molidas en un molino con malla filtradora de 2mm de diámetro, para el contenido de cenizas por incineración de la muestra en mufla a 550°C por 4 horas. El contenido de proteína total por el método de Kjeldhal, el extracto etéreo se determinó en el equipo Soxhlet. Para el

contenido de energía bruta se utilizó una bomba calorimétrica (Marca Parr 6400 Calorimeter). En relación a las fracciones de la fibra: FDN y FDA, según Van Soest (1991). Para la determinación de FDN se adicionó alfa amilasa.

Cuadro 2. Composición de las dietas experimentales (g kg⁻¹ MS) y aporte nutrimental.

Ingrediente	Tratamientos*			
	CS0	CS15	CS25	CS35
Pasta de soya	257.4	221.6	202.1	181.1
Sorgo molido	20.0	70.0	122.9	183.9
Salvado de trigo	107.6	93.4	60.0	20.0
Minerales [‡]	15.0	15.0	15.0	15.0
Rastrojo de maíz	100.0	100.0	100.0	100.0
Ensilado de canola	-	150.0	250.0	350.0
Ensilado de maíz	500.0	350.0	250.0	150.0
Análisis químico calculado				
Materia seca, g kg ⁻¹ MF	593.9	583.8	576.8	569.8
Proteína total, g kg ⁻¹ MS	166.5	166.5	166.5	166.4
Energía Metabolizable, Mcal kg ⁻¹ MS	2.58	2.51	2.48	2.46

*Tratamiento correspondientes al nivel de inclusión de ensilado de canola, en base seca, en la dieta completa mezclada: 0% (CS0), 15% (CS15), 25% (CS25ec) y 35% (CS35).

[‡]Fosforosal 120L®: P, 120g/kg; Cu, 1.33g/kg; Fe, 2g/kg; Mg 10g/kg; Co, 11 mg/kg; I, 0.080g; Zn 4g/kg; S, 12.5g/kg; Se, 0.022g/kg; Ca, 120g/kg; sal, 200 g/kg; Mn, 4g/kg; Co, 0.013g/kg.

El perfil lipídico de las dietas TMR se determinó de acuerdo con la técnica descrita por Sukhija y Palmquist (1988), con modificaciones de Palmquist y Jenkins (2003), utilizando ácido clorhídrico metanólico a 10% en la esterificación de los ácidos grasos (AG) y hexano como solvente orgánico. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos de los alimentos fueron separados y cuantificados por cromatografía de gases con un cromatógrafo marca Perkin

Elmer, modelo Claurus 500 con una columna capilar de 100m x 0.25mm x 0.2 µm marca SUPELCO TM-2560, utilizando nitrógeno como gas acarreador. La temperatura del horno fue de 140 °C por 5 minutos y se elevó la temperatura hasta 240 °C con incrementos de 4 °C por minuto. El inyector y detector se mantuvo a 260 °C. Cada pico fue identificado de acuerdo con los tiempos de retención de los estándares de esteres metílicos (SUPELCO 37, FAME MIX analytical SIGMA USA).

Fermentación ruminal *in vitro* (Técnica de producción de gas)

La cinética de fermentación de las dietas experimentales fue evaluada mediante la técnica de producción de gas *in vitro* descrita Theodorou *et al.* (1994). Así, el líquido ruminal fue extraído mediante sonda nasogástrica de dos bovinos hembras de la raza Holstein y Suizo Americano de 6 años de edad, con peso promedio de 500 kg, alimentados con una dieta a base de ensilado de maíz, pastoreo de pradera ryegrass y un concentrado. Se recolectó aproximadamente 0.5 L de fluido ruminal de cada bovino antes de la alimentación matutina (07:00 h), el cual se depositó en un termo para mantener la temperatura (39 °C) y poder ser transportado al laboratorio para la realizar la incubación. Posteriormente, en el laboratorio, el fluido ruminal fue filtrado con cuatro capas de tela manta de cielo. El líquido ruminal fue gasificado con CO₂ para mantener las condiciones de anaerobiosis, hasta ser utilizado para las incubaciones *in vitro*.

Las incubaciones se llevaron a cabo en tres series en botellas de vidrio (120 mL) provistas de un tapón de goma y selladas herméticamente. Se agregó 0.99±0.01g MS de sustrato en cada botella por cuadruplicado, por serie, se incluyeron 4 frascos sin sustrato considerados como blancos. A cada frasco se adiciono 90 mL de solución de incubación (saliva artificial) y 10 mL líquido ruminal. La solución de incubación estuvo constituida por una mezcla de solución de macro minerales (5.7g de Na₂HPO₄) + (5.7 g Na₂HPO₄) + (6.2 g KH₂PO₄) + (0.6 g Mg SO₄ x 7 H₂O) y micro minerales (13.2 g CaCl₂ x 2H₂O) + (10.0 g MnCl₂ x 4H₂O) + (1.0 g CoCl₂ x 6 H₂O) + (0.8 g FeCl₂ x 6 H₂O), además de una solución tampón de bicarbonato de sodio, agua destilada, solución reductora y rezasurina como indicador de reducción, se realizó un gaseado con CO₂ (Menke y Steingass 1988). Los frascos fueron

incubados en un baño a 39 °C. El volumen de gas (psi) fue medido mediante un transductor de presión (marca Delta OHM®), a las 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 36, 40, 44, 48, 52, 56, 60, 72, 84 y 96 h post incubación. El total de gas producido fue corregido con los frascos blanco.

Se utilizó el modelo matemático propuesto por Jessop y Herrero (1996) para determinar los parámetros de fermentación ruminal, utilizando el programa Grafit V3 para la realización de los ajustes de la curva de producción de gas.

$$GP = a \times (1 - \exp(-ca + t)) + b \times (1 - \exp(-cb \times (t - \text{lag}))) \times (t > \text{lag}) \times -1$$

Dónde:

GP = Producción acumulada de gas (mL)

a = Producción de gas a partir de la fermentación (mL) de la fracción soluble de los carbohidratos

b = Producción potencial de gas (mL) a partir de la fracción insoluble pero potencialmente degradable

ca = Tasa de fermentación de la fracción **a**

cb = Tasa de fermentación de la fracción **b**

lag = Tiempo que transcurre antes de iniciar la fermentación de la FDN.

La producción de gas relativa fue calculada como la relación de materia seca degradable *in vitro* (DIVMS) (g) para el volumen (mL): Producción total de gas (PG 96h)/DIVMS. Dónde: PG 96h es la producción de gas *in vitro* a 96h (mL/g⁻¹ MS). La producción de gas a 24h (PG24h) fue calculada como el volumen de gas mL gas g⁻¹ MS) producido después de 24h de incubación dividida entre la cantidad (g) de DIVMS, acorde a Blümel *et al.* (1997).

La concentración de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) fue calculada acorde a Getachew *et al.* (2002) como AGCC (mmol/200mg MS) = 0.0222PG - 0.00425, donde: PG es la producción de gas neta a las 24h (ml/200mg MS). La producción de biomasa de proteína microbiana fue calculada acorde a Blümel *et al.* (1997) como PMC (mg g⁻¹ MS) = mg DIVMS - (ml gas x 2.2 mg ml⁻¹), donde: 2.2 mg ml⁻¹ es un factor estequiométrico que

expresa los mg de C, H, O requeridos para la producción de AGCC asociado con la producción de 1 mL de gas.

Digestibilidad aparente de la materia seca (DIVMS), materia orgánica (DIVMO) y fibra detergente neutro (DIVFDN).

Posterior al tiempo de incubación se determinó la digestibilidad *in vitro*, se utilizaron dos repeticiones para medir la DIVMS, el sustrato fue filtrado en crisoles Gooch (#1), se secó a 105 °C durante una hora en estufa, se determinó la digestibilidad de la MS por diferencia de peso entre la MS inicial y la MS residual. La determinación de la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica se llevó a cabo mediante la incineración de la muestra residual en una mufla a 450 °C por 4.5h, el cálculo se realizó por diferencia de peso entre la MO inicial menos la MO residual acorde a Aragadvay *et al.* (2015).

La determinación de la digestibilidad de la FDN se realizó acorde con Pell y Schofield (1993), a los residuos de la incubación se adicionaron 50 mL de solución de FDN, después se colocaron en una autoclave (Tuttnauer®) a una temperatura de 105°C durante 60 minutos. Posteriormente se filtraron en crisoles Gosh (#1) y se secaron en una estufa a 105°C por 1h. La digestibilidad *in vitro* de la FDN fue calculada por diferencia de peso del contenido de FDN inicial menos el contenido de FDN residual.

Nitrógeno amoniacal (NH₃-N)

Para cuantificar el contenido de nitrógeno amoniacal se utilizó la técnica de producción de gas *in vitro* (Theodorou *et al.*, 1994). Posterior a las 72 horas de incubación, se tomaron 5 mL de sustrato y se adiciono 0.5 mL de ácido tricloroacético (0.25% P/V) (Meale, 2012), se colocaron en tubos de 10 mL. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 4000 rpm por 10 minuto (13,000 g por 30 minutos a temperatura de 4 °C), se midieron por reacción de fenil-hipoclorito en un espectrofotómetro (Thermo Scientific, Genesys 10S UV-VIS) a 625 nm. Como estándar se utilizó sulfato de amonio (Broderick y Kang, 1980).

Cuantificación de metano (CH₄)

La producción de *in vitro* de CH₄ se determinó utilizando la técnica de producción de gas descrita por Theodorou *et al.* (1994), el gas se midió a 24 h de iniciada la fermentación, con un medidor de gas portátil (Aeroqual serie 500®) provisto de un sensor removible que mide la concentración de CH₄ en ppm. La calibración del sensor se realizó en fábrica (Aeroqual Limited 109 Valley Road, Mt Eden, Auckland 1024, New Zealand).

Análisis estadístico

Los datos recabados fueron analizados mediante un diseño experimental completamente al azar, (SAS, 2002), el modelo general lineal fue: $Y = \mu + T_i + E_{ij}$, Dónde: **Y**, es la variable respuesta; **μ**, es la media general; **T_i**, es el efecto del tratamiento; **e_{ij}** es el error experimental. El nivel de significancia se estableció en P<0.05 y se aplicó la prueba de Tukey para la comparación de medias. Además, se utilizó un análisis de correlación de Pearson para evaluar la relación entre las variables analizadas.

Experimento 2. Desempeño productivo, composición química y perfil de ácidos grasos de la leche de cabras alimentadas con dietas completas mezcladas con y sin ensilado de canola.

Animales y tratamientos

Los procedimientos realizados (uso y cuidado) en los animales de experimentación del presente estudio, fueron basados acorde a las normas oficiales mexicanas (NOM-062-ZOO 1999 y NOM-051-ZOO-1995).

Se utilizaron diez cabras adultas multíparas de raza Alpino Francesa en su último tercio (194±18 días) de lactación, divididas en dos grupos (cinco cabras por grupo) homogéneos, acorde a la producción láctea (405±199.7 g d⁻¹) y peso vivo (49±2.5 kg).

Las dietas ofrecidas a las cabras fueron raciones completas mezcladas (TMR, por sus siglas en inglés) en estabulación. Las dietas se formularon para ser isoproteicas e isoenergéticas

de acuerdo a los requerimientos del NRC (2007) para pequeños rumiantes. Los ingredientes de las dietas experimentales son mostrados en el Cuadro 3. Se evaluaron dos tratamientos: i) Testigo (**CTRL**), TMR sin la inclusión de ensilado de canola, y ii) TMR (**25EC**) con la inclusión de 25% (BS) de ensilado de canola.

Desarrollo experimental

Las cabras fueron alojadas en corraletas individuales (1.5 x 1.5 m), provistos de bebederos y comederos. Las cabras tuvieron 15 días de adaptación al manejo y a la dieta. Finalizada la adaptación, inició la fase de medición, la cual tuvo una duración de 10 días. Las cabras fueron pesadas con una báscula de barras al inicio y final del experimento.

Cuadro 3. Ingredientes de las dietas experimentales (g kg⁻¹ MS) suministradas.

Ingrediente	Tratamiento	
	CTRL	25EC
Ensilado de canola	-	250
Ensilado de maíz	500	250
Rastrojo de maíz	100	100
Sorgo molido	75	205
Pasta de soya	140	90
Salvado de trigo	160	80
‡Minerales	25	25

‡ Fosforysal 120L®: P, 120 g/kg; Cu, 1.33 g/kg; Fe, 2 g/kg; Mg 10 g/kg; Co, 11 mg/kg; I, 0.080 g/kg; Zn 4 g/kg; S, 12.5 g/kg; Se, 0.022 g/kg; Ca, 120 g/kg; sal, 200 g/kg; Mn, 4g/kg; Co, 0.013 g/kg.

La alimentación de las cabras se realizó en dos momentos durante el día (09:00 y 16:00 h), proporcionando el alimento en comederos individuales, con agua de bebida disponible a libre acceso todo el tiempo. Cada semana fueron muestreadas las dietas experimentales para su análisis en el laboratorio. Diariamente se realizó un ordeño (08:30 h) con ordeñadora mecánica (De Laval®), se registró la producción de leche de manera individual

y se tomó una muestra de leche al momento del ordeño (50 mL), la cual fue congelada (-20 °C) para su posterior análisis.

El consumo voluntario fue registrado individualmente durante los diez días que duro el experimento, el cual se determinó por el registro de la oferta y rechazo del alimento. Una muestra de alimento fue tomada y conservada a temperatura de congelación (-20 °C) hasta su análisis en el laboratorio.

Análisis de laboratorio

La composición química y el contenido de los ácidos grasos de las dietas experimentales fueron determinados mediante los métodos descritos anteriormente en el experimento 1.

La determinación del contenido de proteína, grasa y lactosa en la leche de las cabras se realizó mediante un analizador de leche (Lactoscan®, Milk analyzer), cada muestra se analizó por duplicado.

Para el perfil de ácidos grasos de la leche, se realizó, previa extracción de la grasa, acorde con la técnica descrita por Feng *et al.* (2004). La metilación de la muestra se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Christie (1982), con modificaciones de Chouinard *et al.* (1999). Los ésteres metílicos de los ácidos grasos de la leche y de los alimentos fueron separados y cuantificados por cromatografía de gases con un cromatógrafo marca Perkin Elmer, modelo Claurus 500 con una columna capilar de 100m x 0.25mm x 0.2 µm marca SUPELCO TM-2560, utilizando nitrógeno como gas acarreador. La temperatura del horno fue de 140 °C por 5 minutos y se elevó la temperatura hasta 240 °C con incrementos de 4 °C por minuto. El inyector y detector se mantuvieron a 260 °C. Cada pico fue identificado de acuerdo con los tiempos de retención de los estándares de ésteres metílicos marca SUPELCO 37, FAME MIX analytical SIGMA USA. El consumo de ácidos grasos fue calculado acorde con Allen (2000).

Análisis estadístico

El análisis estadístico utilizado para las variables de respuesta productiva: peso vivo, consumo, producción, composición de la leche y perfil de ácidos grasos se sometieron a la prueba t-Student's, con un nivel de significancia de $P < 0.05$ para determinar la diferencia entre medias (SAS, 1999).

Experimento 3: Efecto de los compuestos hidroalcohólicos del brócoli (*Brassica oleracea*) sobre las características de fermentación ruminal *in vitro*, producción de ácidos grasos volátiles y metano.

Área de estudio

El estudio fue realizado en el laboratorio de la Unidad Experimental de Nutrición Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, España.

Preparación del extracto

La extracción de los compuestos hidroalcohólicos se realizó acorde a Perez-Balibrea *et al.* (2011). Previa liofilización y molienda de la muestra (1 mm), se tomaron 100 g de muestra de brócoli en MS a la cual se le adicionaron 800 mL de metanol al 70%, se sonicó por 5 min y se mantuvo en un baño de agua a 70 °C durante 30 minutos. Posteriormente, se centrifugó a 13,000 g por 30 minutos a temperatura de 4 °C, se colectó el sobrenadante y mediante un rotavapor (40 °C) se eliminó el solvente orgánico, se procedió a la liofilización del sobrenadante, Finalmente con agua ultrapura se reconstituyó aforando a un volumen final de 200 mL; posteriormente, se procedió a realizar una depuración con filtro de 0.45µm (Polyethersulfone filter, Millex-HV13, Millipore, Bedford, MA), posterior a la filtración, la muestra se mantuvo en congelación a -20 °C hasta su utilización en las incubaciones *in vitro*.

Ensayo *in vitro*

Se evaluó, en incubaciones *in vitro*, siete niveles de inclusión de compuestos hidroalcohólicos del brócoli: 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5 y 2.0 % respecto a la cantidad de sustrato incubado (0.3 g MS), el cual consistió de muestras de heno de alfalfa (700 g kg⁻¹) y semilla de cebada (300 g kg⁻¹) molidas a 1 mm de tamaño de partícula.

Las incubaciones *in vitro* se realizaron siguiendo la técnica descrita por Jayanegara *et al.* (2015), se utilizaron frascos de 120 mL de capacidad, se adicionó 20 mL de saliva artificial y 10 mL de líquido ruminal, obtenido del rumen de dos cabras, alimentadas con heno de alfalfa. El líquido ruminal fue filtrado con cuatro capas de gasa, el fluido resultante de la mezcla de cada rumen fue utilizado como inóculo. La saliva artificial fue constituida por una mezcla de solución de macrominerales, solución tampón de bicarbonato de sodio, solución reductora y rezasurina como indicador de reducción, el cual fue gaseado con CO₂ hasta obtener un pH final de 6.8 (Menke y Steingass, 1988) mantenidas a 39 °C en un baño de agua.

Las muestras de sustrato fueron pesadas directamente en los frascos (0.3 g), se adicionó 20 mL de saliva artificial y 10 mL de líquido ruminal, y 0, 0.81, 1.62, 2.42, 3.23, 4.85, 6.47 mL de sustrato de compuestos hidroalcohólicos del brócoli respecto al porcentaje de inclusión. Para mantener el mismo volumen en todos los tratamientos se agregó hasta 6.47 mL de agua destilada para obtener un volumen total de 36.47 mL para cada tratamiento. Se realizaron dos series, con cuatro repeticiones cada una. El volumen de gas en el espacio de cabeza fue registrado mediante un transductor de presión (marca WIKA® modelo CPT2500), a la 3, 6, 9, 12, 18 y 24 h. acorde a Theodorou *et al.* (1994) y Mauricio *et al.* (1999). El total de gas producido en las incubaciones fue corregido por un blanco. Los valores de producción de gas se ajustaron al modelo: $PG = A * (1 - e^{(-c*(t-L)})$ (McDoddald *et al.*, 1981). La digestibilidad *in vitro* de la materia (DIVMS) se determinó mediante el lavado con agua destilada del sustrato residual del frasco, se filtró en bolsas Dakron (80 mm x 120 mm y un tamaño de poro de 53 micras), secadas a 60°C por 48h, la digestibilidad de la MS fue determinada por diferencia de peso entre la MS inicial y la MS residual. En adición, a 24 h post incubación, se tomaron muestras para determinar la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y CH₄. Para AGV, del sobrenadante

previamente centrifugado se tomaron 1.5 mL, se adicionó 0.05 mL de ácido sulfúrico al 50% y se mantuvieron a -20 °C hasta su análisis. Además, del gas acumulado del espacio de cabeza se tomó muestra para determinar la producción de CH₄ por cromatografía de gases.

Análisis de laboratorio

El análisis químico proximal en el sustrato se determinó por métodos convencionales, el contenido de materia seca, cenizas y proteína total (AOAC, 2012). La fibra detergente neutro (FDN) y ácido (FDA) según Van Soest *et al.* (1991).

La determinación de los glucosinolatos en el extracto (20 µL) fue realizada por cromatografía de líquidos (HPLC; Waters Chromatography, SA, Barcelona, España). Con un sistema de administración de multisolventes W600E, degasificador en línea, inyector automático W717Plus, conjunto de detectores de fotodiodos W2996 a 227 nm, una columna Luna C8 (250 x 4.6 mm y 5µm de tamaño de partícula; Phenomex, Macclesfield, UK) y un cartucho de protección de seguridad C18-ODS (Phenomenex 4 x 3 mm). La fase móvil fue a base de (solución A) agua/ácido tricloroacético (99.9:0.1) y (solución B) acetonitrilo/ácido tricloroacético (99.9:0.1). Los glucosinolatos intactos se identificaron y cuantificaron utilizando el método de cromatografía líquida de glucosinolato intacto/espectrometría de masas, utilizando sinigrina como estándar (Monohidrato de sinigrina de *Sinapis nigra*, Phytoplan Diehm y Neuberger, GmbH, Heidelberg, Alemania) acorde a Baenas *et al.* (2012).

La cuantificación del contenido de azúcares se analizó mediante ¹H NMR. El extracto seco se reconstituyó en 800 µL de una solución tampón de fosfato D20 (KH₂PO₄ 100 mM, pH= 6) que contenía 0.01% de TPS (sal sódica del ácido trimetilsililpropiónico 0.05 mM) como estándar interno. Las muestras fueron sonicadas durante 2 minutos y posteriormente agitadas en vortex por 2 m. La mezcla fue centrifugada a 16,100g por 10 minutos a 4 °C. Posteriormente el sobrenadante fue filtrado y 600 µL fueron colocados en tubos NMR hasta su análisis acorde a Massaretto *et al.* (2018).

Para determinar la concentración de ácidos grasos volátiles (AGVs), se utilizó cromatografía de gases mediante la técnica descrita por Madrid *et al.* (1999), utilizando 4-metil valérico como estándar interno. El análisis de CH₄, fue realizado mediante cromatografía de gases (Agilent 7890B, Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA) equipado con detector de flama de ionización, una columna empacada Hayesep Q, 2 m x 1/8" OD x 2.1 mm ID (Teknokroma, Agilent Technologies). La temperatura del horno se mantuvo a 60 °C durante 2.5 minutos, utilizando Helio como gas acarreador, a una tasa de flujo de 15 mL/min. De la muestra se inyectaron 100 µL de gas. Para la determinación de las cantidades presentes en las muestras se realizó una recta de calibrado mediante la inyección de distintos volúmenes de una mezcla patrón de CH₄ (balanceada con nitrógeno) suministrada por Praxair (España), en el rango de concentraciones de 1.89% a 18.90% en volumen de CH₄.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante un diseño experimental completamente al azar usando el modelo MIXED de SPSS (versión 21; 2007), la corrida de la incubación fue considerada como efecto aleatorio. El nivel de significancia fue $P < 0.05$ para establecer diferencias.

Todas las variables fueron analizadas mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y cuando no se cumplieron los supuestos de normalidad, los valores se transformaron logarítmicamente para el análisis estadístico (Gutiérrez y De la Vara, 2008).

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1: Parámetros de fermentación ruminal y producción de metano *in vitro* de dietas completas mezcladas con diferentes niveles de inclusión de ensilado de canola.

Esta investigación reúne los resultados que favorecen la evaluación del efecto de diferentes niveles de inclusión del ensilado de canola a dietas TMR en asociación con el ensilado de maíz sobre las características de fermentación ruminal *in vitro*.

Los valores promedio y desviación estándar de la composición química de las dietas, ensilados de canola y de maíz se muestran en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Composición química (g kg^{-1} MS \pm DE) de las dietas completas mezcladas con diferente proporción de ensilado de canola, así como de los forrajes ensilados de canola y de maíz.

Variable ¹	Tratamientos [†]				Ensilado de canola	Ensilado de maíz
	CS0	CS15	CS25	CS35		
MO	934.14 \pm 1.71	929.41 \pm 1.81	924.61 \pm 0.18	923.35 \pm 1.25	892.9 \pm 0.10	949.6 \pm 0.40
PC	164.57 \pm 0.02	165.38 \pm 0.46	165.34 \pm 1.07	164.61 \pm 0.22	141.5 \pm 0.50	47.70 \pm 0.70
EE	14.41 \pm 1.67	15.04 \pm 0.63	15.39 \pm 0.04	15.94 \pm 0.05	35.7 \pm 1.50	15.8 \pm 0.30
CNE	325.30 \pm 5.40	358.13 \pm 4.80	387.13 \pm 6.5	416.58 \pm 10.80	351.2 \pm 0.80	291.1 \pm 13.3
FDN	429.86 \pm 2.00	391.07 \pm 1.58	361.53 \pm 0.12	332.23 \pm 1.19	364.5 \pm 1.90	594.6 \pm 10.2
FDA	211.62 \pm 1.03	200.95 \pm 0.43	187.94 \pm 0.56	176.79 \pm 1.06	212.4 \pm 3.20	206.1 \pm 17.0
LDA	50.66 \pm 1.53	53.77 \pm 0.17	51.95 \pm 1.00	52.54 \pm 0.12	ND	ND
EB	4.18 \pm 0.01	4.15 \pm 0.01	4.13 \pm 0.01	4.07 \pm 0.01	4.02 \pm 0.30	4.24 \pm 0.08

¹MS: Materia seca; MO: Materia orgánica; PC: Proteína cruda; EE: Extracto etéreo; FDN: Fibra detergente neutro; FDA: Fibra detergente ácido; LDA: Lignina detergente ácido; CNE: Carbohidratos no estructurales [100-(FDN+PC+Cenizas+EE)]; EB: Energía bruta (Mcal/kg DM); ND: No determinado.

[†]Tratamientos correspondientes al nivel de inclusión de ensilado de canola, en base seca, en la dieta completa mezclada: 0% (CS0), 15% (CS15), 25% (CS25) y 35% (CS35).

Las dietas fueron formuladas para ser isoproteicas e isoenergéticas. La inclusión de ensilado de canola en la TMR disminuyó el contenido de FDN en 6% para CS15 y 22.7% con el nivel máximo de inclusión (CS35) con respecto a la dieta control (CS0). Similar efecto fue observado para el contenido de MS y FDA, un efecto contrario se observó para los carbohidratos no estructurales, estos se incrementaron con la inclusión de ensilado de canola.

El forraje de canola se destaca por su alto nivel de nutrientes, como la PC y los carbohidratos solubles. Sin embargo, realmente su valor nutritivo está determinado por la digestión que realizan los microorganismos ruminales, productos de la fermentación ruminal y el consumo voluntario (Keim *et al.*, 2018). Limón-Hernández *et al.* (2019) reportaron un contenido de PC (143 g kg⁻¹ MS) y energía bruta (4.1 Mcal kg⁻¹ MS) valores similares a lo observado en el presente estudio en el ensilado de canola con la adición de 4% de melaza. En otro estudio, Kincaid *et al.* (2012), al ensilar forraje de canola en asociación con forraje de chícharo reportaron un contenido de PC y FDN de 132.8 y 298.2 g kg⁻¹ MS, respectivamente. Kaur *et al.* (2011), mencionan que la composición química y la degradación del forraje de canola, realizada por los microorganismos ruminales, está influenciada por el grado de madurez de la planta. Además, Kincaid *et al.* (2012) indicaron que el proceso de ensilaje del forraje de canola disminuye la cantidad de nitratos presentes en la planta, lo cual disminuye los problemas de salud en los rumiantes que consumen directamente el forraje de canola en condiciones de pastoreo.

El perfil de ácidos grasos (AG) de las diferentes dietas se muestra en el Cuadro 5. La inclusión de ensilado de canola tuvo efecto ($P < 0.05$) sobre el contenido de AG de cadena larga ($>C18$). El ácido linolénico (C18:3 *c9c12c15*) y heneicosanoico (C21:0) incrementaron su contenido conforme aumentó el nivel de ensilado de canola en la TMR. Efecto contrario fue observado para el ácido linoleico (C18:2 *c9c12*), este disminuyó cuando la proporción de ensilado de canola se incrementó en la TMR. El contenido de AG saturados: laúrico (C12:0; 0.12 ± 0.04 g 100 g AG), mirístico (C14:0; 0.22 ± 0.03) y palmítico (C16:0; 18.46 ± 0.69), fueron similares ($P > 0.05$) entre tratamientos. El incremento de C18:3 *c9c12c15* fue más evidente con la inclusión del ensilado de canola en la TMR; este AG es un precursor del ácido vaccénico (VAC); en la glándula mamaria el ácido VAC es

desaturado y transformado a C18:2 *c9t11*. Esta desaturación representa la mayor fuente de este isómero en la leche. Ambos ácidos son deseables en los productos de rumiantes debido a que se ha demostrado que tiene efectos positivos en la salud humana. (Pariza *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2012).

Cuadro 5. Efecto del nivel de inclusión de ensilado de canola sobre el contenido de ácidos grasos (g 100 g AG) en dietas completas mezcladas.

Ácido graso [‡]	Tratamientos [†]					Valor_P	Efectos (valor_P)	
	CS0	CS15	CS25	CS35	EEM ¹		Lineal	Cuadrático
C12:0	0.11	0.10	0.16	0.10	0.02	0.050	1.000	1.000
C13:0	0.18	0.23	0.14	0.15	0.03	0.060	0.027	0.093
C14:0	0.22	0.23	0.21	0.19	0.02	0.060	0.384	0.018
C16:0	18.6	18.7	18.6	17.9	0.40	0.451	1.000	0.443
C16:1	0.29	0.30	0.38	0.36	0.05	0.400	0.874	0.668
C18:0	2.77 ^b	2.96 ^{ab}	2.94 ^{ab}	3.03 ^a	0.05	0.019	0.157	0.527
C18:1 _{c9}	23.8 ^a	22.2 ^{ab}	21.4 ^b	22.1 ^{ab}	0.41	0.019	0.028	0.093
C18:2 <i>c9c12</i>	48.5 ^a	44.6 ^b	39.6 ^c	36.2 ^d	0.38	0.001	0.003	0.510
C18:3 <i>c9c12c15</i>	5.01 ^d	8.37 ^c	12.1 ^b	14.0 ^a	0.38	0.001	0.001	0.278
C21:0	0.00	1.89 ^c	4.07 ^b	5.38 ^a	0.12	0.001	0.001	0.737
Otros	0.52	0.42	0.40	0.59	0.08	0.192	0.001	0.347

^{abc} Valores medios en la misma hilera con distinta literal son diferentes (P<0.05).

¹EEM= Error Estándar de la Media.

[‡] Láurico (C12:0), tridecanoico (C13:0), mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2), linolénico (C18:3), heneicoesanoico (C21:0)

[†] Tratamientos correspondientes al nivel de inclusión de ensilado de canola, en base seca, en la dieta completa mezclada: 0% (CS0), 15% (CS15), 25% (CS25) y 35% (CS35).

De acuerdo con Kepler y Tove (1967) hay competencia durante el proceso de biohidrogenación ruminal de C18:2 *c9c12* y C18:3 *c9c12c15*, ya que ambos ácidos son hidrogenados por las mismas bacterias, lo que podría indicar que la mayor presencia de cierto AG podría ser hidrogenado con mayor velocidad y eficiencia según la preferencia bacteriana. Cuando hay un alto contenido de C18:3 *c9c12c15*, la isomerización de C18:2 *c9c12* puede ser afectada debido a la competencia entre los AG C18:3 *c9c12c15* y C18:2 *c9c12* para la fijación en la envoltura de las bacterias portadoras de isomerasas (Troegeler-Meynaider *et al.*, 2003), porque la isomerización la realizan las mismas bacterias (Kepler y Tove, 1967). Además, un alto contenido de C18:3 *c9c12c15* es importante en el proceso de BH, mediante este proceso se sintetizan ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) como el C18:1 *trans*, particularmente el ácido vaccénico (C18:1 *t11*). Estos AGMI pueden representar el sustrato para la síntesis de *novo* del ácido CLA en la glándula mamaria, ambos ácidos están presentes de forma natural en los alimentos (leche y carne) derivados de los rumiantes, estos ácidos tienen un potencial benéfico para la salud humana, incluyendo la prevención de ciertos tipos de cáncer, reducción del riesgo de enfermedades cardiacas, mejora del sistema inmunológico, cuando son consumidos (Pariza *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2012).

Por otro lado, cuando los aceites vegetales son utilizados como fuente de C18:2 *c9c12*, incrementan las cantidades de CLA y VAC (Troegeler-Meynaider *et al.*, 2003). Si consideramos que los isómeros del CLA, principalmente ácido ruménico (C18:2 *c9t11*), son formados a partir del metabolismo del C18:2 *c9c12* en rumen (Wallace *et al.*, 2007), en este sentido, el tratamiento CS0 mostró un alto contenido de C18:2 *c9c12*, lo que podría favorecer la síntesis de estos intermediarios de la BH y su presencia en los productos de los rumiantes.

Las TMR son dietas típicas usualmente usadas en sistemas intensivos que han mostrado ser reductoras del contenido de determinados AG saturados en la leche, comparadas con otros sistemas de alimentación como las TMR más pastoreo (o TMR parciales), o cuando las TMR incluyen ensilado de leguminosas (Morales-Almaráz *et al.*, 2010; 2011). En el presente estudio, la mejora en el contenido de AG podría deberse al alto aporte de C18:3 *c9c12c15* en las TMR (Cuadro 5), esto está relacionado con una alta producción ruminal de

VAC, seguida por la desaturación, en glándula mamaria, para producir CLA. Por lo tanto, puede ser posible mejorar la composición de la grasa de la leche incorporando ensilado de canola como una fuente de C18:3 *c9c12c15* para mejorar el perfil de ácidos grasos de la leche. Tanto C18:2 *c9c12* como C18:3 *c9c12c15* son esenciales para el animal, y son precursores del VAC en el proceso de BH (Harfoot y Hazlewood, 1997).

En el Cuadro 6 se presentan los parámetros de fermentación ruminal de las TMR. La fracción soluble (A) se incrementó ($P < 0.05$) con la inclusión de ensilado de canola en la TMR. Por otro lado, la producción de gas de la fracción insoluble (B) disminuyó ($P < 0.05$) en CS25 y CS35, comparado con la dieta control.

No se observaron diferencias ($P > 0.05$) para la tasa de la fracción soluble (c_a). Sin embargo, la tasa de degradación de la fracción insoluble (c_b), incrementó ($P < 0.05$) 0.004 mL en CS15, CS25, y CS35. El tiempo lag mostró un efecto lineal ($P < 0.05$), este disminuyó cuando la proporción de ensilado de canola aumentó en la TMR; sin embargo, CS15 y CS25 mostraron los valores más bajos del tiempo lag, comparados con la dieta control. La digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), la producción de gas relativa (PGR) y el pH, no mostraron diferencias ($P > 0.05$) entre tratamientos.

Una mayor digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) y de producción de gas a 24h (PG24h) fue observada en el tratamiento CS15. Además, la digestibilidad *in vitro* de la fibra detergente neutro (DIVFDN) disminuyó ($P < 0.01$) en el tratamiento CS35 comparado con la dieta control (Cuadro 6). Diferentes factores tienen influencia sobre la fermentación de los alimentos en rumen, como la proporción de almidón, el contenido de FDN y la lignificación de la pared celular (Nagani *et al.*, 2000). Por otro lado, la DIVMS puede ser un indicador para determinar la calidad nutricional de la dieta. De acuerdo con Chamberlain y Wilkinson (2002), una DIVMS superior a 700 g kg⁻¹ MS, es ideal para rumiantes. En el presente estudio, la DIVMS tuvo valores de 833.07±6.29 g kg⁻¹ MS en las TMR donde el ensilado de canola fue incluido. Kincaid *et al.* (2012) reportan una DIVMS de 759 g kg⁻¹ MS en la TMR con inclusión de ensilado de canola (15% BS), ensilado de maíz (8.6%) y heno de alfalfa (34%).

Cuadro 6. Efecto del nivel de inclusión de ensilado de canola sobre los valores de pH, NH₃-N, CH₄ y los parámetros de fermentación ruminal *in vitro*.

Parámetro ¹	Tratamientos [†]				EEM ¹	Valor_P	Efectos (Valor_P)	
	CS0	CS15	CS25	CS35			Lineal	Cuadrático
pH	6.67	6.69	6.69	6.70	0.020	0.737	1.000	1.000
A mL(gas g ⁻¹ MS)	28.2 ^b	37.9 ^a	36.8 ^a	40.8 ^a	1.58	<0.001	1.000	1.000
c-a (h)	0.166	0.165	0.167	0.171	0.004	0.683	0.007	0.010
B (mL gas g ⁻¹ MS)	232.6 ^a	232.8 ^a	223.5 ^b	222.4 ^b	3.89	0.043	0.961	0.717
c-b (h)	0.045 ^b	0.049 ^b	0.053 ^a	0.056 ^a	0.001	<0.001	0.133	0.361
Lag time (h)	3.19 ^a	2.87 ^b	2.89 ^b	2.99 ^{ab}	0.067	0.008	0.001	0.865
DIVMS	841.9	833.1	828.7	828.4	6.36	0.423	1.000	1.000
DIVMO	906.6 ^a	924.2 ^a	869.6 ^b	896.4 ^{ab}	7.18	<0.003	0.158	0.783
DIVFDN	649.4 ^a	617.0 ^b	576.4 ^c	553.9 ^c	5.78	<0.001	0.001	0.001

Continuación Cuadro 6.

Parámetro ¹	Tratamientos [†]					EEM ¹	Valor_P	Efectos (Valor_P)	
	CS0	CS15	CS25	CS35	Lineal			Cuadrático	
PGR	312.1	317.3	311.9	317.1	6.22	0.869	0.990	0.495	
PG24h	198.5 ^b	211.9 ^{ab}	221.3 ^a	220.2 ^a	4.59	0.155	0.004	0.731	
AGCC (mmol 200 mg MSD)	0.742 ^b	0.785 ^{ab}	0.825 ^a	0.807 ^a	0.015	0.014	0.002	0.948	
PMC (mg g ⁻¹ MSD)	476.7 ^a	448.2 ^{ab}	432.6 ^b	428.9 ^b	10.01	0.021	0.008	0.610	
NH ₃ -N (mg dL ⁻¹)	33.1 ^a	33.7 ^a	34.3 ^a	22.6 ^b	2.41	<0.001	1.000	1.000	
CH ₄ (mmol g ⁻¹ MOD)	0.346	0.263	0.227	0.264	0.034	0.115	0.142	0.707	

^{abc} Valores medios en la misma hilera con distinta literal son diferentes (P<0.05), (P>0.1); ¹EEM, Error estándar de la media.

¹A: gas producido de los carbohidratos rápidamente degradables; c_a: tasa de gas de los carbohidratos rápidamente degradables; B: gas producido de la fracción insoluble; c_b: tasa de la producción de gas de la fracción insoluble; Lag time (h): tiempo antes de que empiece la fermentación de la fracción insoluble; DIVMS: MS degradada a las 96 h (mg/g MS); DIVMO: MO degradada a las 96 h (mg/g MS); DIVFDN: FDN degradada a las 96 h (mg/g MS); PGR Producción de gas relativa (ml gas 96h / g DIVMS 96h); PG24 producción de gas a las 24 h (mL gas/g MSD); AGCC ácidos grasos de cadena corta; PMC: producción de biomasa de proteína microbiana; NH₃-N nitrógeno amoniacal a las 72 h pos incubación; CH₄: metano a las 24 h pos incubación.

[†] Tratamientos correspondientes al nivel de inclusión de ensilado de canola, en base seca, en la dieta completa mezclada: 0% (CS0), 15% (CS15), 25% (CS25) y 35% (CS35).

La DIVFDN disminuyó con la inclusión de ensilado de canola en la TMR, esto pudo deberse a la heterogeneidad de los componentes de la pared celular de las brassicas y el contenido de la población bacteriana presente en rumen (Keim *et al.*, 2018). Sin embargo, dicha variación en la composición química de las brassicas ha sido poco investigada (Kaur *et al.*, 2011).

El tratamiento CS35 mostró ($P < 0.05$) los valores más bajos de $\text{NH}_3\text{-N}$ y proteína microbiana. La captación de $\text{NH}_3\text{-N}$ por los microorganismos ruminales se basa en la degradación de la proteína y los carbohidratos; por lo tanto, la concentración de $\text{NH}_3\text{-N}$ en el rumen es un buen predictor del uso del nitrógeno por parte de los microorganismos ruminales y de cómo es transformado a nitrógeno microbiano (Hall, 2017). Al respecto, la dieta con alta captación de $\text{NH}_3\text{-N}$ fue la dieta control; CS0, que mostró altos valores de proteína microbiana (Cuadro 6). La cantidad y tasa de degradación de la proteína cruda tiene influencia sobre el contenido de $\text{NH}_3\text{-N}$ en rumen (Oh *et al.*, 2008). Este proceso de degradación de la proteína, asociado con la fermentación del almidón en las incubaciones, puede explicar las diferentes concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ en los tratamientos. Gallo *et al.* (2016) mencionan que la digestión ruminal depende de una secuencia dinámica de eventos sinérgicos que influyen en los productos finales de la fermentación y las fuentes de producción de carbohidratos. Por lo cual, se considera a la concentración de $\text{NH}_3\text{-N}$ ruminal como predictor de la eficiencia de conversión del nitrógeno consumido en nitrógeno microbiano.

Los AG de cadena corta (AGCC) se incrementaron con la inclusión de ensilado de canola en la TMR, mientras que la proteína microbiana disminuyó, posiblemente debido a la baja sincronización entre la energía y el nitrógeno metabólico disponible. Al respecto, Pulido (2010) mencionó que la mayoría de los microorganismos ruminales son dependientes de los carbohidratos presentes en el alimento como la principal fuente de energía para potencializar la utilización del $\text{NH}_3\text{-N}$ y por ende, producir proteína microbiana.

No hubo diferencias para la producción de metano (CH_4) ($P > 0.05$), (Cuadro 6). Sin embargo, numéricamente hubo una reducción en la producción de CH_4 en las TMR por efecto de la inclusión de ensilado de canola. Pocas investigaciones han sido dirigidas a evaluar el efecto del forraje de canola sobre la producción de CH_4 (Williams *et al.*, 2016;

Sun *et al.*, 2015); como forraje conservado hay poca información de los efectos sobre la producción de CH₄. Recientemente, Limón-Hernández *et al.* (2019) evaluaron el ensilado de canola con la inclusión de 0, 1, 2, 3 y 4% de melaza y observaron una baja producción de metano, este efecto fue observado en los tratamientos con la adición de 3 y 4% de melaza, el CH₄ disminuyó 32 y 18%, respectivamente, a 24 y 48h post incubación *in vitro*. En el presente estudio, los tratamientos CS25 y CS35 mostraron disminución de 34 y 23.9% de producción de metano *in vitro*, respectivamente, comparado con CS0. Barry (2013), menciona que las brassicas contienen glucosinolatos y taninos que tienen efecto sobre la actividad de las bacterias metanogénicas; sin embargo, el mecanismo de acción de estos componentes aun es desconocido.

Por otro lado, Sun *et al.* (2015) mencionan que los carbohidratos fermentables presentes en la canola promueven una alta síntesis de propionato, los cuales son asociados con una baja producción de H₂ y como consecuencia una baja producción de metano. Conviene especificar que las bacterias metanogénicas (Arqueas) usan el hidrógeno metabólico (H₂) resultado de la fermentación de los carbohidratos para reducir el CO₂ a CH₄ (Kamra *et al.*, 2015). En consecuencia, una disminución en la producción de CH₄ puede deberse a la poca disponibilidad de H₂ para las arqueas (Ku-Vera *et al.*, 2020). Por lo tanto, el mayor factor que puede determinar la producción de CH₄ en el rumen es el tipo de carbohidrato presente en la ración (estructurales: celulosa y hemicelulosa; no estructurales: almidón y azúcares solubles). En el presente estudio estos efectos pueden explicar la correlación negativa de las fracciones c_{-a} y c_{-b} con la producción de gas *in vitro*.

Los coeficientes de correlación de Pearson entre la composición química, la digestibilidad *in vitro* y el perfil de los ácidos grasos de las dietas TMR son mostrados en el Cuadro 7. Los AG C18:2 c9c12 y C18:3 c9c12c15 tuvieron una correlación positiva (P<0.001) con la DIVFDN y c_{-b} y baja (P<0.05) relación con la fracción B y los valores de pH. La producción de CH₄ tuvo una correlación negativa (P<0.001) con las tasas de la fracción insoluble de la fibra (c_{-b}) y la fracción soluble (c_{-a}) y una relación positiva (P<0.05) con DIVMS.

Doreau y Ferlay (1995) mencionan que la presencia de AGPI en la dieta tiende a disminuir la concentración de NH₃-N en rumen; sin embargo este último no muestra ningún efecto

sobre el flujo duodenal, por lo que el impacto en la síntesis de proteína microbiana es mínimo. En contraste, la digestibilidad de la FDN es afectada por el contenido de AG en la dieta (>C18), probablemente debido a la inhibición del crecimiento de los microorganismos celulolíticos (Doreau y Chilliard, 1997). Es por ello que, una correlación negativa ($r=-0.94$, $P<0.05$) fue observada entre la DIVFDN y el ácido graso C18:3 (Cuadro 7); sin embargo esta correlación no fue observada en otros ácidos grasos de cadena larga.

Cuadro 7. Coeficientes de correlación de Pearson entre variables de la composición química, digestibilidad *in vitro* y contenido de ácidos grasos de las dietas completas mezcladas con diferente proporción de ensilado de canola.

Variable ¹	Producción de gas <i>in vitro</i>				DIVMS	Ácidos grasos		
	A	c _a	B	c _b		C18:1	C18:2	C18:3
FDN			0.62*	-0.96**				
FDA			0.62*	-0.96**				
CNE			-0.62*	0.96**				
EB				-0.87**				
DIVFDN	0.77**		0.66**	0.80**		0.57*	0.95**	-0.94**
B				-0.52**			0.69*	-0.65*
c _b							-0.87**	0.81**
pH	0.40*		-0.43*			-0.64*	-0.75**	0.72**
NH ₃ -N							0.62*	-0.60*
CH ₄ 24h		-0.42*		-0.55**	0.60*			

¹FDN: fibra detergente neutro; FDA: Fibra detergente ácido; CNE: carbohidratos no estructurales; EB: energía bruta; C18:1, ácido oleico; C18:2, ácido linoleico, C18:3, ácido linolénico; ¹A: gas producido de los carbohidratos rápidamente degradables; c_a: tasa de gas de los carbohidratos rápidamente degradables; B: gas producido de la fracción insoluble; c_b: tasa de la producción de gas de la fracción insoluble; Lag time (h) tiempo antes de que empiece la fermentación de la fracción insoluble; DIVMS: MS degradada *in vitro*; DIVFDN: FDN degradada *in vitro*; NH₃-N: nitrógeno amoniacal *in vitro* a las 72 h post incubación; CH₄ 24h: producción de metano *in vitro* a las 24 h pos incubación.

* $P<0.05$; ** $P<0.001$.

Está aceptado que el pH ruminal es una condición muy dinámica que puede afectar negativamente la actividad de las bacterias celulolíticas, lo que puede resultar en una reducción de la BH de los ácidos grasos polinsaturados (AGPI), particularmente C18:2 y C18:3. Un bajo pH puede afectar la síntesis del ácido vaccénico y CLA en el rumen

(Harfoot y Hazlewood, 1997). El pH no mostró diferencias ($P>0.05$) entre tratamientos (Cuadro 6), mostrando valores que están dentro del rango fisiológico para animales consumiendo dietas con una relación F:C 60:40. Además, Beauchemin *et al.* (2000) mencionan que la tasa de fermentación de la fracción insoluble (c_{-b}) está íntimamente relacionada con la composición química y contenido de FDN de la dieta; esto puede estar asociado con la correlación negativa entre c_{-b} con el contenido de la FDN ($r= -0.96$) y el contenido de energía bruta ($r= -0.87$), observada en el presente estudio.

Bajo las condiciones de este estudio, se concluye que al incluir 25 y 35% de ensilado de canola en la dieta afecta negativamente los parámetros de fermentación ruminal, la proteína microbiana, la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y la digestibilidad *in vitro* de la fibra detergente neutro. Sin embargo, incrementó el contenido de C18:3 $c9c12c15$ en la dieta.

Se sugieren estudios adicionales que evalúen el efecto del ensilado de canola sobre el desempeño animal y la calidad de la grasa de los productos de los rumiantes.

Experimento 2: Desempeño productivo, composición química y perfil de ácidos grasos de la leche de cabras alimentadas con dietas completas mezcladas con y sin ensilado de canola.

Recientemente se ha cuestionado el consumo de ácidos grasos saturados (AGS) presentes en los productos de los rumiantes y su efecto sobre aumentar el riesgo a padecer enfermedades cardiovasculares en humanos. La inclusión de ensilado de canola en la dieta de cabras podría tener efecto benéfico al incrementar el contenido de AGPI en la leche, los cuales tienen efectos positivos en la salud humana.

En el Cuadro 8 se muestra el contenido de AG de las dietas experimentales. Los ácidos linolénico (C18:3 *c9c12c15*) y heneicosanoico (C21:0) de la dieta fueron mayoritarios ($P < 0.05$) en la dieta 25EC (59.5% y 99.7%, respectivamente). Sin embargo, la dieta CTROL aportó 19.7% más ácido linoleico (C18:2 *c9c12*) que el tratamiento 25EC. Los forrajes frescos pueden aportar una alta cantidad de C18:3 *c9c12c15*. Sin embargo, el proceso de ensilaje puede causar una disminución de este ácido. Por otra parte, los forrajes conservados como el ensilado de maíz presentan un nivel alto de ácido C18:2 *c9c12* y oleico (C18:1 *c9*) (Schulz *et al.*, 2017b). En consecuencia, al reemplazar el ensilado de maíz por ensilado de canola en la dieta incrementó la concentración de C18:3 *c9c12c15* y redujo el contenido de C18:2 *c9c12* (<20%) en el tratamiento 25EC (Cuadro 8). Los ácidos C18:3 *c9c12c15* y C18:2 *c9c12* son considerados los mayores sustratos para las bacterias ruminales usados para la producción de ácidos vaccénico (VAC; C18:1 *t11*) y ruménico (AR; C18:2 *c9t11*) (Chilliard *et al.*, 2007).

El ácido ruménico es el isómero más abundante en la grasa de la leche de los rumiantes, es sintetizado mediante dos vías metabólicas: 1) en rumen, debido a una incompleta BH del C18:2 *c9c12* y 2) por desaturación, en glándula mamaria a través de la $\Delta 9$ -desaturasa. Además, se ha demostrado que esta vía es la principal fuente de C18:2 *c9t11* en la grasa de la leche (Mosley *et al.*, 2006).

Cuadro 8. Composición química (g kg⁻¹ MS) y contenido de ácidos grasos de las dietas experimentales suministradas.

Componente [‡]	Tratamientos			Valor_P
	CTROL	25EC	EEM ¹	
MS	379.66	365.54	4.6864	0.0589
CZ	49.42	55.31	2.0953	0.1176
PC	119.52	120.50	1.6789	0.6309
EE	20.67	19.51	0.3423	0.0736
FDN	482.57	401.07	4.7659	0.0003
FDA	176.87	172.83	0.8313	0.0265
EB (cal/kg ⁻¹ MS)	4142.71	4068.05	9.0878	0.0004
EN _L (Mcal/kg ⁻¹ MS) [♦]	1.76	1.77	0.0023	0.0161
Ácidos grasos (g/100 g AG)				
C12:0	0.111	0.302	0.0321	0.0015
C13:0	0.041	0.044	0.0117	0.8673
C14:0	0.090	1.30	0.1035	0.0001
C16:0	21.13	21.58	0.4095	0.4825
C16:1	0.020	0.027	0.0091	0.5830
C18:0	3.14	3.00	0.1802	0.6209
C18:1 <i>c</i> 9	25.85	24.35	0.5084	0.0702
C18:2 <i>c</i> 9 <i>c</i> 12	44.29	35.56	0.4312	0.0001
C18:3 <i>c</i> 9 <i>c</i> 12 <i>c</i> 15	3.86	9.54	0.3502	0.0001
C21:0	0.011	3.77	0.2327	0.0001
Otros	0.987	0.956	0.1243	0.8735

¹EEM=Error estándar de la media.

[♦]Energía neta de lactancia, determinada como: EN_L: (9.07-0.0097*FDA g/kg)/4.184 (Menke and Steingass, 1988).

[‡]MS=Materia seca; CZ=Cenizas; PC=Proteína cruda; EE=Extracto etéreo; FDN=Fibra detergente neutro; FDA=Fibra detergente ácido; EB=Energía bruta.

La utilización de EC en la dieta incrementó ($P < 0.05$) 25% la producción de leche de cabras en la etapa final de lactación (Cuadro 9). Previos estudios, donde se ha utilizado el forraje fresco de canola en la dieta para bovinos lecheros se observó que puede mejorar el desempeño animal (Williams *et al.*, 2016; Keim *et al.*, 2020). Sin embargo, son escasos los trabajos que evalúan el efecto en la especie caprina sobre la producción y calidad de la leche. Williams *et al.* (2016) al sustituir 8.5 kg de alfalfa (BS), con forraje fresco de canola en la dieta para vacas, observaron un incremento de 15% en la producción de leche. Sin embargo, cuando se incluyó 9 y 15% de ensilado de canola-chícharo en la dieta de vacas, no hubo efecto sobre la producción de leche (Kincaid *et al.*, 2012). La evaluación de forrajes fermentados en la dieta de cabras, alternativos al ensilado de maíz, como el ensilado de girasol, ha mostrado una disminución lineal de la producción de leche con el nivel creciente de inclusión de este en la dieta (34, 66 y 100% BS), respecto al testigo (Yildiz y Erdogan, 2018).

Cuadro 9. Consumo de materia seca (kg d^{-1}), producción de leche (kg d^{-1}) y composición química (%) de la leche de cabras alimentadas con y sin ensilado de canola.

Variable	Tratamientos			Valor_P
	CTROL	25EC	¹ EEM	
Peso vivo (kg)	54.55	51.43	2.6232	0.0543
CMS	1.32	1.34	0.0602	0.6723
Producción de leche	0.260	0.347	0.0337	0.0117
FCM [†]	0.226	0.286	0.0204	0.0046
Grasa	4.23	4.52	0.2027	0.1563
Proteína	3.06	2.95	0.0668	0.1669
Lactosa	4.51	4.43	0.0575	0.1117

¹ EEM= Error estándar de la media.

[†]Producción de leche corregida por la grasa: $\text{FCM} = \text{PL (g/d)} * (0.6340 + 0.1046 * \% \text{grasa})$ (Pulina *et al.*, 1991).

No se encontraron diferencias ($P>0.05$) en el contenido de proteína (3.01 ± 0.34 %), lactosa (4.47 ± 0.29 %) y grasa (4.38 ± 1.02 %), así como para el consumo de materia seca (1.33 ± 0.30 kg d⁻¹) y peso vivo corporal (52.99 ± 7.24 kg) por efecto de los tratamientos (Cuadro 9). Similares efectos han sido reportados en otros estudios con vacas alimentadas con forraje o ensilado de canola (Kincaid *et al.*, 2012; Williams *et al.*, 2016). Castillo-Umaña *et al.* (2020) al incluir 250 g kg⁻¹ MS de forraje fresco de canola en sustitución de ensilado de pasto no observaron cambios en la composición química de la leche de vacas.

La modificación de la dieta es el principal factor que altera el contenido de grasa en la leche (Ferlay *et al.*, 2017), este efecto no fue observado en el presente trabajo, probablemente por el tiempo avanzado de la etapa de lactación de las cabras. El contenido de grasa en leche es alto después del parto hasta el pico de lactación, después decrece durante la mayor parte de la lactación en las cabras, lo cual está altamente correlacionado con el efecto dilución y con la disminución de la movilización de las reservas de grasa del animal (Chilliard *et al.*, 2003).

El consumo de AG mostró diferencias ($P<0.05$) entre tratamientos (Cuadro 10). La dieta con ensilado de canola produjo un menor consumo diario de AG, sin embargo, las cabras con 25EC tuvieron 56% mayor consumo de C18:3 *c9c12c15*. El tratamiento control mostró mayor ($P<0.05$) consumo de C16:0, C18:1 *c9*, C18:2 *c9c12* y C21:0.

Cuadro 10. Consumo de ácidos grasos (g d^{-1}) de cabras alimentadas con y sin ensilado de canola en dietas completas mezcladas.

Ácidos grasos (g d^{-1})	Tratamientos		¹ EEM	Valor_P
	CTROL	25EC		
C14:0	0.014	0.182	0.0060	0.0001
C16:0	3.275	2.880	0.1386	0.0054
C18:0	0.477	0.407	0.0199	0.0007
C18:1 <i>c</i> 9	3.924	3.349	0.1637	0.0007
C18:2 <i>c</i> 9 <i>c</i> 12 <i>c</i> 15	6.723	4.939	0.2635	0.0001
C18:3 <i>c</i> 9 <i>c</i> 12 <i>c</i> 15	0.587	1.353	0.0482	0.0001
Otros	0.178	0.745	0.0252	0.0001
Consumo total de AG	15.177	13.855	0.6538	0.0459

¹ EEM= Error estándar de la media.

La leche de cabras es rica en ácidos grasos insaturados, lo cual ha tomado interés por sus efectos benéficos para la salud humana, por su efecto en reducir las enfermedades cardiovasculares (Lordan *et al.*, 2018). El perfil de AG en la leche es mostrado en el Cuadro 10. La adición de EC no tuvo efecto ($P > 0.05$) sobre el contenido de AG mayoritarios de la leche (C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, C18:1 *c*9 y C18:2 *c*9*c*12).

Hubo efecto ($P < 0.05$) del ensilado de canola sobre el contenido de ácidos VAC y AR en leche, con respecto al tratamiento control fue observado un incremento de 60 y 57%, respectivamente. El mayor contenido de ácidos VAC y AR en leche de cabras se observó en el tratamiento 25EC, y está relacionado con el mayor aporte de C18:3 *c*9*c*12*c*15 en la dieta y su mayor consumo (Cuadros 8 y 10). El consumo de C18:3 *c*9*c*12*c*15 y C18:2 *c*9*c*12, es indispensable para la síntesis de ácido VAC en rumen, y su posterior absorción intestinal representaría un incremento de la síntesis *de novo* de AR en la glándula mamaria, dado que la enzima $\Delta 9$ -desaturaza introduce un doble enlace *cis* entre los carbonos 9 y 10

para dar origen al AR (C18:2 *c9t11*) (Harvatine *et al.*, 2009), esta ruta representa más de 75% del total del AR presente en la grasa de la leche (Buccioni *et al.*, 2012). El AR es el mayor isómero del CLA (>90%), a este isómero se le atribuyen los efectos benéficos en la salud humana (Parodi, 2009; Salter, 2013).

Cuadro 11. Contenido de ácidos grasos (g 100g AG) de la leche de cabras alimentadas con y sin ensilado de canola en dietas completas mezcladas.

Ácido graso	Tratamientos		¹ EEM	Valor_P
	CTROL	25EC		
C4:0	1.86	2.21	0.1678	0.0415
C6:0	2.76	2.86	0.1541	0.5169
C8:0	2.75	2.90	0.1820	0.3980
C10:0	9.17	10.31	0.4832	0.2153
C11:0	0.14	0.22	0.6162	0.0014
C12:0	4.84	5.04	0.4066	0.6280
C13:0	0.04	0.08	0.0217	0.0025
C14:0	11.63	11.94	0.4650	0.4992
C14:1	0.03	0.05	0.0090	0.0028
C15:0	0.40	0.61	0.0581	0.0006
C15:1	0.04	0.09	0.0183	0.0080
C16:0	32.94	31.69	1.2564	0.3260
C16:1	0.39	0.62	0.0533	0.0001
C17:0	0.29	0.47	0.0489	0.0006
C17:1	0.03	0.13	0.0315	0.0030
C18:0	7.46	7.06	0.6594	0.5432
C18:1 <i>c</i> 9	22.01	21.00	0.6897	0.1505
C18:1 <i>t</i> 11 (VAC)	0.06	0.15	0.0198	0.0001
C18:2 <i>c</i> 9 <i>c</i> 12	1.73	1.61	0.1229	0.3276
C18:2 <i>c</i> 9 <i>t</i> 11(AR)	0.09	0.21	0.0279	0.0001
Otros	0.30	0.21	0.0575	0.1220

¹ EEM= Error estándar de la media.

El total de ácidos grasos según el grado de saturación e índices de aterogenicidad y desaturasa de la leche de cabras alimentadas con y sin ensilado de canola se presentan en el Cuadro 12.

Cuadro 12. Total de ácidos grasos según grado de saturación (g 100g AG) e índices de aterogenicidad y desaturasa en leche de cabras alimentadas con y sin ensilado de canola.

Categoría	Tratamientos		¹ EEM	Valor_P
	CTRL	25EC		
AGS	75.52	76.04	0.8035	0.5145
AGI	24.48	23.95	0.8035	0.5145
AGMI	22.64	22.11	0.7183	0.4696
AGPI	1.84	1.83	0.1377	0.9696
Índice de aterogenicidad [†]	3.53	3.58	0.2061	0.7904
$\Delta 9$ -desaturaza [‡]				
C14:1/C14:0	0.0027	0.0049	0.0008	0.0053
C16:1/C16:0	0.0124	0.0194	0.0018	0.0003
C18:1/C18:0	0.7478	0.7567	0.0160	0.5807

¹EEM=Error Estándar de la Media.

[†]Calculado acorde a Ulbricht y Southgate (1991): $(C12 + 4 * C14 + C16) / (\text{total AGI})$.

[‡] Actividad desaturasa, calculada para cada par de ácidos grasos acorde a Kelsey *et al.* (2003): producto $\Delta 9$ -desaturasa / (producto $\Delta 9$ -desaturasa + sustrato $\Delta 9$ -desaturasa). Por ejemplo, C14 = C14:1 / (C14:1 + C14).

La inclusión de EC no tuvo efecto ($P > 0.05$) sobre el grado de saturación de los AG, ni en el índice de aterogenicidad. El contenido de AGPI en la leche incrementó al incluir forraje fresco de canola (8.5 kg MS d^{-1}) en la dieta de vacas a mitad de la lactación, pero no afectó al contenido de AGS y AGMI (Williams *et al.*, 2016). Park *et al.* (2007) mencionan que el rango de AGPI en la grasa de la leche de cabras es de 3-5%, sin embargo, en el presente estudio el contenido de estos fue inferior ($< 1.85\%$). Por otra parte, el índice de la actividad de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa mostró diferencias ($P < 0.05$) entre tratamientos; las cabras alimentadas con EC mostraron un mayor índice desaturasa de C14:0 y C16:0 respecto a la dieta CTRL. Sin embargo, no se observó efecto en el índice desaturasa del C18:0

($P > 0.05$). Aproximadamente 40% del ácido esteárico es desaturado y aporta más de 50% del ácido oleico presente en leche (Chilliard *et al.*, 2001). La enzima $\Delta 9$ -desaturasa tiene una potente actividad sobre los ácidos de 18 carbonos y en menor grado sobre los de cadena corta.

En conclusión, incluir 25%BS de ensilado de canola en sustitución del ensilado de maíz en raciones completas mezcladas aumentó 33.46% la producción de leche, sin embargo, no se modificó el contenido de componentes mayoritarios (grasa, proteína y lactosa) de la leche de cabras de la raza Alpina al final de la lactación. El contenido total de AG saturados, monoinsaturados y polinsaturados en la leche no se vio afectado. Por lo tanto, los resultados sugieren que el ensilado de canola es una opción viable, como un forraje alternativo, que puede remplazar al ensilado de maíz sin afectar el consumo, la producción y contenido de componentes mayoritarios de la leche, pero mejora el perfil lipídico de la grasa láctea de cabras al final de la lactación, aumentando el contenido de los ácidos vaccénico y ruménico.

Experimento 3: Efecto de los compuestos hidroalcohólicos del brócoli (*brassica oleracea*) sobre las características de fermentación ruminal *in vitro*, producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y metano.

Investigaciones sobre la utilización de las brassicas como el brócoli (*Brassica oleracea*) en la alimentación de los rumiantes han recibido poca atención. Por otro lado, debido a su contenido de compuestos bioactivos (glucosinolatos, isotiocinatos y compuestos fenólicos) han sido más objeto de estudio en el campo de la salud humana. Sin embargo, estudios previos donde se han utilizado las brassicas en la alimentación de rumiantes, han demostrado que estos compuestos tienen efecto sobre la mitigación de la producción del CH₄ (Sun *et al.*, 2020), uno de los principales gases causantes del efecto invernadero.

La composición química del heno de alfalfa y grano de cebada, así como su combinación (sustrato) utilizados en las incubaciones *in vitro*, son mostrados en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Composición química de los ingredientes y sustrato experimental utilizados en las incubaciones *in vitro* (g kg⁻¹ MS).

Ingrediente	MS	PC	FDN	FDA
Heno de alfalfa	940.10	18.64	423.17	316.48
Cebada grano	948.00	9.51	238.60	47.62
Sustrato (70:30)	942.47	15.89	344.46	227.42

MS=Materia seca; PC=Proteína cruda; FDN=Fibra detergente neutro; FDA=Fibra detergente ácido.

El contenido de glucosinolatos (GLS) y azúcares presentes en el extracto de brócoli son mostrados en el Cuadro 14. El contenido total de GLS del extracto fue de 1.17 mg mL⁻¹. La glucorafanina, 4-hidroxiglucobrasicina y glucobrasicina aportaron 79.58% del total de los GLS presentes en extracto de brócoli. Bischoff (2016) menciona que la glucorafanina y glucobrasicina son GLS mayoritarios presentes en las brassicas, lo cual fue corroborado en el presente estudio debido a que la glucorafanina represento 32.99% y la glucobrasicina 20.66% del total de los GLS contenidos en el extracto. Además, estos autores indican que la glucobrasicina se puede encontrar en todas las especies de brassicas. Sin embargo, la cantidad de 4-hidroxiglucobrasicina fue mayor respecto a la glucobrasicina, mostrando un

contenido de 25.93% del total de GLS. El contenido en azúcares del extracto de brócoli fue de 33.8 mg mL⁻¹. El 42.11% del total de los azúcares del extracto de brócoli está dado por la fructosa, otros azúcares como la glucosa aportó 36.32% y la sucrosa 17.77% (Cuadro 14).

Cuadro 14. Contenido de glucosinolatos y azúcares (mg mL⁻¹) del extracto de brócoli (*Brassica oleracea*).

Glucosinolato (GLS)	mg mL ⁻¹	Azúcar	mg mL ⁻¹
Glucoiberina	0.034	Glucosa	12.28
Glucorafanina	0.388	Fructosa	14.24
4-Hidroxi glucobrasicina	0.305	Sucrosa	6.01
Glucobrasicina	0.243	Manosa	0.08
4-Metoxi glucobrasicina	0.077	UDP-Glucosa	0.02
Neoglucobrasicina	0.130	Galactosa	0.22
	Total	Mioinositol	0.82
		Xilosa	0.14
		Total	33.81

El efecto de la incorporación de cantidades crecientes del extracto hidroalcohólico del brócoli sobre los parámetros de fermentación ruminal *in vitro* son mostrados en el Cuadro 15. Conforme aumentó el nivel de extracto de brócoli aumentó ($P < 0.05$) el gas producido por la fermentación de los carbohidratos rápidamente degradables (fracción A). Así, al incluir 1.5 y 2% de compuestos hidroalcohólicos, estos mostraron la mayor producción de gas, producto de la fermentación de los carbohidratos rápidamente degradables. Similar efecto ($P < 0.05$) fue encontrado para la producción de gas a 24h. Megias *et al.* (2020) mencionan que el volumen de gas producido en las incubaciones *in vitro*, es el mejor indicador de la digestibilidad aparente en el rumen. Así, la producción de gas depende de la hidratación y colonización realizada por la microbiota ruminal sobre el sustrato y sus componentes. Luego entonces, los productos finales de la fermentación son utilizados para el crecimiento microbiano (Cholewinska *et al.*, 2020).

Cuadro 15. Efecto del nivel de extracto hidroalcohólico de brócoli (*Brassica oleracea*) sobre la cinética de producción de gas, digestibilidad y producción de metano ruminal *in vitro*.

Parámetro ¹	Concentración de extracto (%)							¹ EEM	Valor_P
	0.0	0.25	0.5	0.75	1.0	1.5	2.0		
A (mL)	203.8 ^b	202.6 ^b	204.6 ^b	213.3 ^b	215.1 ^b	245.2 ^{ab}	259.6 ^a	16.17	0.040
c (h ⁻¹)	0.13 ^a	0.14 ^a	0.12 ^a	0.11 ^{ab}	0.11 ^{ab}	0.08 ^b	0.08 ^b	0.020	0.009
Lag time (h)	0.83a	0.89 ^a	0.72 ^{ab}	0.81 ^a	0.67 ^{ab}	0.23 ^c	0.29 ^{bc}	0.214	0.044
PG24h (mL g ⁻¹ MS)	189.8 ^d	199.9 ^c	209.4 ^b	218.1 ^a	218.9 ^a	214.5 ^{ab}	212.9 ^{ab}	3.09	0.000
DIVMS (%)	76.8 ^a	68.4 ^b	68.0 ^b	69.0 ^b	71.4 ^b	70.2 ^b	67.8 ^b	0.57	0.021
CH ₄ (mL g ⁻¹ MS)	47.5 ^c	50.8 ^{bc}	56.6 ^{ab}	63.1 ^a	61.4 ^a	55.8 ^b	46.0 ^c	4.49	0.000

^{abc} Valores medios en la misma hilera con distinta literal son diferentes (P<0.05); EEM, Error estándar de la media. ¹A: gas producido de los carbohidratos rápidamente degradables; c_a: tasa de gas de los carbohidratos rápidamente degradables; Lag time (h): tiempo antes de que empiece la fermentación de la fracción insoluble; PG24 producción de gas a las 24 h (mL gas/g MSD); DIVMS: MS degradada a las 24 h (mg/g MS); CH₄: metano a las 24 h post incubación.

La variable lag mostro diferencias (P<0.05). Los porcentajes 1.5 y 2.0 mostraron los menores tiempos de inicio de la fermentación de la fracción insoluble, comparados con el resto de los porcentajes de inclusión. Las brassicas tienen una alta proporción de carbohidratos solubles y estos pueden ser rápidamente fermentados (Barry, 2013). Este puede ser el caso del extracto de brócoli utilizado que contiene una proporción importante de azúcares (Cuadro 14).

Cuando el extracto de brócoli no fue incluido se observó la mayor (P<0.05) DIVMS con respecto al testigo. Sin embargo, en los tratamientos con inclusión del sustrato de brócoli no se encontró diferencias (P>0.05) entre los diferentes porcentajes de inclusión.

Los porcentajes de inclusión de 0.0 y 2.0% redujeron (P<0.05) la producción de CH₄ (24.7%) con respecto a 0.75 y 1.0 % de inclusión, quienes mostraron la mayor producción

de CH₄. Es conocido que los metabolitos secundarios presentes en las plantas han sido utilizados para modular la microbiota ruminal y modificar sus funciones (Ku-Vera *et al.*, 2020), entre ellas la disminución de la producción de metano. Sin embargo, esto involucra una gran variedad de mecanismos de la población microbiana del rumen, con efectos variados.

El Cuadro 16 muestra el contenido de AGV y pH presentes en los tratamientos. La producción de AGV se vio afectada (P<0.05) por la inclusión de los compuestos hidroalcohólicos en el sustrato. Conforme se incrementó la inclusión del extracto de brócoli en el sustrato incubado el total de AGV se incrementó hasta en 83.9% con el nivel de 1.5% y un 79.8% con 2.0% de inclusión. Similar efecto (P<0.05) fue observado para la proporción de propiónico. Respuesta contraria fue observada para isobutírico, isovalerico y valerico; estos disminuyeron (P<0.05) por efecto de la inclusión del extracto. En adición, el pH disminuyó conforme se fue incrementado el nivel de inclusión del extracto. El aumento en la cantidad de ácido propiónico observado en el presente estudio podría deberse al incremento del flujo de hidrogeno metabólico (H₂) en el rumen, que pudo ser utilizado para la síntesis de propiónico. Al respecto, se ha demostrado, bajo condiciones *in vitro* (Chen *et al.*, 2020), que la síntesis de propiónico decrece la producción de CH₄, esto se logra cambiando el flujo del H₂ para la formación de CH₄, por la síntesis de propiónico. Sin embargo este efecto no fue observado en el presente estudio, debido a que el extracto, si bien aumento la síntesis de ácido propiónico, no disminuyo la producción de CH₄.

Se concluye que la digestibilidad de la MS, el pH y la relación acético:propionico disminuyó con la incorporación del extracto hidroalcohólico del brócoli. La producción de metano tuvo un efecto dependiente del nivel de incorporación, primero subió, observándose una reducción a niveles altos de inclusión. Los compuestos hidroalcohólicos aumentaron la producción de ácidos grasos volátiles, observándose un aumento de las fermentaciones propiónicas.

Cuadro 16. Efecto de los niveles crecientes del extracto hidroalcohólico de brócoli (*Brassica oleracea*) sobre el contenido total y perfil de ácidos grasos volátiles (AGV), y pH del medio ruminal *in vitro*.

Parámetro ¹	Concentración de extracto (%)							¹ EEM	Valor_P
	0.0	0.25	0.5	0.75	1.0	1.5	2.0		
Total AGV (mM)	104.7 ^{cd}	102.8 ^d	129.4 ^c	151.5 ^{bc}	173.3 ^b	184.9 ^a	180.9 ^a	3.45	0.000
	Proporción molar (%)								
Acético	59.5 ^b	59.8 ^{ab}	60.7 ^{ab}	60.9 ^{ab}	61.2 ^a	60.4 ^{ab}	57.1 ^c	0.24	0.000
Propiónico	17.7 ^d	18.3 ^c	18.4 ^c	18.5 ^c	18.7 ^c	19.6 ^b	21.5 ^a	0.16	0.000
Butírico	16.5 ^{ab}	16.3 ^{abc}	15.9 ^{bc}	15.9 ^c	15.8 ^c	16.0 ^{bc}	16.9 ^a	1.01	0.032
Isobutírico	2.27 ^a	1.95 ^b	1.81 ^c	1.66 ^d	1.51 ^e	1.36 ^f	1.36 ^f	0.02	0.000
Isovalérico	2.23 ^a	1.83 ^b	1.62 ^c	1.41 ^d	1.24 ^e	1.05 ^f	1.00 ^f	0.01	0.000
Valérico	1.58 ^b	1.62 ^b	1.50 ^b	1.47 ^b	1.45 ^b	1.48 ^b	2.00 ^a	0.03	0.000
Total	4.51 ^a	3.79 ^a	3.43 ^a	3.07 ^a	2.76 ^a	2.41 ^b	2.36 ^c	0.02	0.000
Relación C2/C3	3.35 ^a	3.26 ^{ab}	3.30 ^{ab}	3.28 ^{ab}	3.27 ^b	3.08 ^c	2.66 ^d	0.04	0.000
Relación (C2+C4/C3)	4.28 ^a	4.15 ^{ab}	4.17 ^{ab}	4.14 ^{ab}	4.12 ^b	3.89 ^c	3.45 ^d	0.04	0.000
pH	5.95 ^a	5.86 ^b	5.85 ^b	5.78 ^c	5.73 ^d	5.69 ^{de}	5.66 ^e	0.02	0.000

¹EEM= Error estándar de la media

VIII. CONCLUSIONES GENERALES

VIII. CONCLUSIONES GENERALES

La inclusión de ensilado de canola en la dieta modificó los parámetros de fermentación ruminal *in vitro*:

- a) La inclusión de 25 y 35% (BS) de ensilado de canola disminuyó la proteína microbiana, la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y fibra detergente neutro.
- b) La inclusión de ensilado de canola no afectó la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS).
- c) La digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) tuvo correlación positiva con la producción de metano.
- d) La producción de metano disminuyó cuando se incluyó 25 y 35% (BS) de ensilado de canola en la dieta.
- e) La utilización de 25 y 35% (BS) de ensilado de canola representó el mayor aporte de C18:3 *c9c12c15* (ácido linolénico) en la dieta.

El ensilado de canola en la dieta de cabras al final de la lactación no mostró efectos sobre el consumo de materia seca, peso vivo corporal y contenido de componentes mayoritarios (proteína, grasa, lactosa) de la leche, sin embargo, incrementó 33.46% la producción de leche y el consumo ácido linolénico, respecto a la alimentación de la dieta sin ensilado de canola.

La composición de ácidos grasos de la grasa de la leche fue modificada por la inclusión de ensilado de canola, incrementando el contenido de los ácidos ruménico y vaccénico, ambos componentes funcionales deseables en los productos de los rumiantes por su efecto benéfico para la salud humana.

La adición de diferente concentración de extracto hidroalcohólico de brócoli al medio ruminal muestra diferente efecto sobre los parámetros de fermentación *in vitro*:

- a) El extracto hidroalcohólico de brócoli se caracterizó por un contenido de glucosinolatos de 1.176 mg/mL^{-1} y un alto contenido en azúcares (33.18 g/mL^{-1})
- b) La inclusión del extracto redujo la digestibilidad de la materia seca y el valor del pH.
- c) La inclusión de 0.25 y 2.0% del extracto disminuyó la producción de metano.
- d) La inclusión de extracto aumentó la producción de ácidos grasos volátiles, principalmente el ácido propiónico.

IX. LITERATURA CITADA

IX. LITERATURA CITADA

- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. 2012. Official methods of analysis. 19th ed. AOAC, Arlington, VA, USA.
- Allen, S.M. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83: 1598-1624.
- Aragadvay, Y.R.G., Rayas A.A.R., Heredia N.D., Estrada F.J.G., Martínez C. F. E. Arriaga J. C. M. 2015. Evaluación *in vitro* del ensilaje de girasol (*Helianthus annuus L.*) solo y combinado con ensilaje de maíz. *Rev. Mex. Cienc. Pec.* 6(3): 315-327.
- Baenas, N., Moreno, D.A., García-Viguera, C. 2012. Selecting sprouts of Brassicaceae for optimum phytochemical composition. *J. Agric. Food Chem.* 60(45): 11409-11420.
- Balakhial, A., Naserian, A.A., Heravi-Moussavi, A., Eftekhari-Shahrodi, F., Vali-Zadeh, R. 2008. Changes in chemical composition and *in vitro* DM digestibility of urea and molasses treated whole crop canola silage. *J. Anim. Vet. Adv.* 7(9): 1042-1044.
- Barry, T.N. 2013. The feeding value of forage brassica plants for grazing ruminant livestock. *Anim Feed Sci. and Tech.* 181: 15-25
- Bauman, E.D., Baumgard, H.L., Corl, A.B., Griinari, M.J. 1999. Biosynthesis conjugated linoleic acid in ruminants. *J. Anim. Sci.* 77: 1-15.
- Bauman, D.E., Barbano, D.M., Dwyer, D.A., Griinari, J.M. 2000. Technical note: Production on buffer whit enhanced conjugated linoleic acid for use biomedical studies with animal models. *J. Dairy Sci.* 83:2422-2425.
- Bauman, D.E. y Griinari, J.M. 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci.* 70:15-29.
- Baumgard, L.H., Matitashvili, E., Corl, B.A., Dwyer, D.A., Bauman, D.E. 2002. *Trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 2125-2163.
- Beauchemin, K.A., Kreuzer, M., O'mara, F., McAllister, T.A. 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian J. Exp. Agric.* 48(2): 21-27.

- Beauchemin, K.A., McAllister, T.A., McGinn, S.M. 2009. Dietary mitigation of enteric methane from cattle. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources. 4(035): 1-18.
- Beauchemin, K.A., Ungerfeld, E.M., Eckard, R.J. Wang, M. 2020. Review: Fifty years of research on rumen methanogenesis: lessons learned and future challenges for mitigation. Animal. 14S1:2-16.
- Bhatta, R., Saravanan, M., Baruah, L., Prasad, C.S. 2014. Effects of graded levels of tannin-containing tropical tree leaves on *in vitro* fermentation, total protozoa and methane production. J. Appl. Microbiol. 118: 557-564.
- Bhatta, R., Uyeno, Y., Tajima, K., Takenaka, A., Yabumoto, Y., Nonaka, I., Kurihara, M. 2009. Difference in the nature of tannins on *in vitro* ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. J. Dairy Sci. 92(11): 5512-5522.
- Bischoff, K. L. 2016. Glucosinolates. In *Nutraceuticals* Academic Press. pp. 551-554.
- Blümmel, M., Steingass, H., Becker, K. 1997. The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and ¹⁵N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. Br. J. Nutr. 77: 911-921.
- Bodas, R., Prieto, N., García-González, R., Andrés, S., Giráldez, F. J., López, S. 2012. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. Anim. Feed Sci. Tech. 176(1-4): 78-93.
- Broderick, G.A. y Kang, J.H. 1980. Automated simultaneous determinations of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. J. Dairy Sci. 63: 64-75.
- Buccioni, A., Decandia, M., Minieri, S. Molle, G. Cabiddu, A. 2012. Lipid metabolism in the rumen: new insights in lipolysis and biohydrogenation with emphasis on the role of endogenous plant factors. Anim. Feed Sci. Tech. 174: 1-25.
- Burbano, M.V.A., López, G.F., Estrada, F.J.G., Sainz, S.P.A., Arriaga, J.C.M., (2018). Oat silage grazing dairy cows small-scale systems in the highlands of central Mexico. African J. Range and Forage Sci. 35 (1): 63-70.
- Burrows, G.E., y Tyrl, R.J. 2013. Toxic Plants of North America. Second ed. Wiley Blackwell, Ames, Iowa.

- Cañeque, M.V., Y Sancha, S.J.L. 1998. Ensilado de forrajes y su empleo en la alimentación de rumiantes. Ediciones Mundi-Prensa.
- Casillo-Umaña, M., Balochi, O., Pulido, R., Sepúlveda-Varas, P., Pacheco, D., Muetzel, S., Berthiaume, R., Keim, R. 2020. Milk production responses and rumen fermentation of dairy cows supplemented with summer brassicas. *Animal*. 14(8):1684-1692.
- Chambelain, A.T. y Wilkinson, J.M., 2002. Alimentación de la vaca lechera. Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- Chilliard Y, Ferlay A, Doreau M. 2001. Effect of different types of forages animal fat marine oils in cows diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livest. Prod. Sci.*, 70:31-48.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Rouel, J., Lamberet, G. 2003. A Review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J. Dairy Sci.* 86: 1751-1770.
- Chilliard, Y. y Ferlay, A. 2004. Dietary lipids and forages interaction on cow and goat milk fatty and composition and sensory properties. *Reprod. Nutr. Dev.* 44: 467-492.
- Chilliard, Y., Glaser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J., Doreau, M. 2007. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *Eur. J. Lipid. Sci. Tech.* 109: 828-855.
- Chen, Y.J., Walling, M.A., Jeffery, E.H. 2016. Dietary broccoli lessens development of fatty liver and liver cancer in mice given diethylnitrosamine and feed western or control diet. *J. Nutri.* 146: 542-550.
- Chen, J., Harstad, O.M., McAllister, T., Dörsch, P., Holo, H. 2020. Propionic acid bacteria enhance ruminal feed degradation and reduce the methane production *in vitro*. *Acta Agri. Scand.* 69:1-7.
- Cholewinska, P., Czyz, K., Nowakowski, P., Wyrstek, A. 2020. The microbiome of the digestive system of ruminants-a review. *Anim. Health Res.* 1-12
- Chouinard, P.Y., Louise, C., Barbano, D.M., Metzger, L.E., Bauman, D.E. 1999. Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. *J. Nutr.* 129: 1579-1584.

- Christie, W.W. 1982. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. *J. Lipid Res.* 23: 1072-1075.
- Crosby, G.M.M., Ramírez, M.M. 2018. Técnica de producción de gas *in vitro* para estimar la producción de metano. *Agroproductividad.* 11 (2): 64-69.
- Davis, C.L. y Brown, R.E. 1970. Cow-fat milk syndrome. En: *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant.* AT Phillipson (Ed) Oriel Press. Newcastle upon Tyne, UK. 545-565.
- Dillard, S.L., Roca-Fernández, A.I., Rubano, M.D., Elkin, K.R., Soder, K.J. 2018. Enteric methane production and ruminal fermentation of forage brassica diets fed in continuous culture. *J. Anim. Sci.* 96(4):1362-1374.
- Doreau, M. y Ferlay, A. 1994. Digestion and utilization of fatty acids by ruminants. *Anim. Feed Sci. Tech.* 45: 379-396.
- Doreau, M. y Ferlay, A. 1995. Effect of dietary lipids on nitrogen metabolism in the rumen: a review. *Livest. Prod. Sci.* 43:97-110.
- Doreau, M. y Chilliard, Y., 1997. Digestion y metabolismo de dietary fat in farm animals. *Brit. J. Nutr.* 78: 15-35.
- Doreau, M., Chilliard, Y., Rulquin, H., Demeyer, D.I. 1999. Manipulation of milk fat in dairy cows. En: *Recent advances in animal nutrition PC.* Garnsworthy J. Wiseman (Eds). Nottingham Press, Nottingham, UK. 81-109.
- Dulphy, J.P. y Demarquilly, C. 1981. Problèmes particuliers aux ensilages. In: *Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants.* INRA, Francia. p. 81.
- Durmic, Z. y Blache, D. 2012. Bioactive plants and plant products: Effects on animal function, health and welfare. *Anim. feed Sci. Tech.* 176(1-4):150-162.
- Durmic, Z., Moate, J.P., Jacobs, L. J., Vadhanabhuti, J., Vercoe, E.P. 2016 *In vitro* fermentability and methane production of some alternative forages in Australia. *Anim. Prod. Sci.* 56(3): 641-645.
- Espinoza-Canales, A., Gutiérrez-Bañuelos, H., Sánchez-Gutiérrez, R.A., Muro-Reyes, A., Gutiérrez-Piña, F.J., Corral-Luna, A. 2017. Calidad de forraje de canola (*Brassica napus L.*) en floraciones temprana y tardía bajo condiciones de temporal en Zacatecas, México. *Rev. Mex. Cienc. Pec.* 8(3):243-248.

- Fales, S.L., Gustine, D.L., Bosworth, S.C., Hoover, R.J., 1987. Concentrations of glucosinolates and S-methylcysteine sulfoxide in ensiled rape (*Brassica napus L*). J. Dairy Sci.70: 2402-2405.
- Fellner, V., Saver F.D., Kramer, J.K.G. 1995. Steady-state rates of linoleic acid biohydrogenation by ruminal bacteria in continuous culture. J. Dairy Sci. 78: 1815-1823.
- Feng, S., Lock, A.L., Garnsworthy, P.C. 2004. Technical note: A rapid lipid separation method for determining fatty acid composition of milk. J. Dairy Sci. 87:3785-3788.
- Ferlay, A., Bernard, L., Meynadier, A., Malpuech-Brugere. 2017. Production of *trans* and conjugated fatty acids in dairy ruminants and their putative effects on human health: A review. Biochimie. 141: 107-120.
- Fonty, G. y Grenet, E. 1994. Effects on diet on fungal population of the digestive tract of ruminants. En: Anaerobic Fungi: Biology, Ecology and Function. DO Mountfort. CG Orpin (Eds). New York: Marcel Dekker. pp. 229-239.
- Gallo, A., Giuberti, G. Masoero, F. 2016. Gas production and starch degradability of corn and barley meals differing in mean particle size. J. Dairy Sci. 99:1-13.
- García, S.C., Fulkerson, W.J., Brookes, S.U. 2008. Dry matter production, nutritive value and efficiency of nutrient utilization of a complementary forage rotation compared to a grass pasture system. Grass and Forage Sci. 63(3): 284-300.
- Getachew, G., Makkar, H.P.S. & Becker, K., 2002. Tropical browses: contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. J. Agric. Sci. 139:341-352.
- Getachew, G., DePeters, J.E., Robinson, H.P., Fadel, G.J. 2005. Use of an *in vitro* rumen gas production technique to evaluate microbial fermentation of ruminant feeds and its impact on fermentation products. Anim. Feed Sci.Tech. 123-124:547-559.
- Griinari, J.M., Bauman, D.E., Jones, L.R. 1995. Low milk fat in New York Holstein herds. En: Proceedings off Cornell Nutrition Conference. 96-105 pp.
- Griinari, J.M., Dwyer, D.A., McGuire, M.A., Bauman, D.E., Palmquist, D.L., Nurmela, K.V.V. 1998. Trans-octadecanoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 81: 1251-1261.

- Gutiérrez, P.H. y De la Vara, S.R. 2008. Análisis y diseño de experimentos 2da. Ed. Mc Graw Hill. Mexico, D.F. pp 564.
- Halkier, B.A., y Gershenzon, J. 2006. Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 57: 303-333.
- Hall, B.M. 2017. Nitrogen source and concentration affect utilization of glucose by mixed ruminal microbes *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 100: 1-12.
- Harfoot, C.G. y Hazlewood, G.P. 1988. Lipid metabolism in the rumen. In: *The rumen Microbial Ecosystem*. PN. Habson (Ed), Elsevier Appl. Sci. Publ. Co, Inc. New York, NY. 282-32.
- Harfoot, C.G. Hazlewood, G.P. 1997. Lipid metabolism in the rumen. In: *The rumen microbiology ecosystem*. PN Habson (Ed). London, UK. Elsevier. 382-426.
- Harvatine, K., Boisclair, Y.R., Bauman. D.E. 2009. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal*. 3(1): 40-54.
- Huang, L., Li, B.L., He, C.X., Zhao, Y.J., Yang, X.L., Pang, B., Zhang, X.H. 2018. Sulforaphane inhibits human bladder cancer cell invasion by reversing epithelial-to-mesenchymal transition via directly targeting microma-200c/zeb 1 axis. *J. Funct Foods*. 41:118-126.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. 2020. [En línea]. Disponible en www.inegi.org.mx. (Revisado el día 08 de diciembre de 2021).
- Jayanegara, A., Goeh, G., Makkar, S.P.H., Becker, K. 2015. Divergence between purified hydrolysable and condensed tannin effects on methane emission, rumen fermentation and microbial population *in vitro*. *Anim. Feed Sci. Tech.* 209:60-68.
- Jeyanathan, J., Martin, C., Morgavi, P. 2014 The use of direct-fed microbials for mitigation of ruminant methane emissions: a review. *Animal*. 8(2): 250-261.
- Jenkins, T. C. (1993). Symposium: advances in ruminant lipid metabolism. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 76: 38-51.
- Jenkins, T.C., Wallace, R.J., Moate, P.J., & Mosley, E.E. 2008. Board-Invited Review: recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acid within the rumen microbial ecosystem. *J. Anim. Sci.* 86:397-412.
- Jessop, N.S. y Herrero, M., 1996. Influence of soluble components on parameter estimation using the *in vitro* gas production technique. *Anim. Sci.* 62: 626-627.

- Johnson, K.A. y Johnson, D.E. 1995. Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 73(8): 2483-2492.
- Kamra, D.N., Agarwal, N., Chaudhary, L.C. 2015. Manipulation of rumen microbial ecosystem for reducing enteric methane emission in livestock. In *Climate change impact on livestock: Adaptation and mitigation*. India. pp 255-272.
- Kaur, R., García, S.C., Fulkerson, W.J., Barchia, I.M., 2011. Utilization of forage rape (*Brassica napus*) and Persian clover (*Trifolium resupinatum*) diets by sheep: effects on whole tract digestibility and rumen parameters. *Anim. Prod. Sci.* 50: 59-67.
- Kaur, R., Garcia, C.S., Fulkerson, J.W., Barchia, M.I. 2010. Degradation kinetics of leaves, petioles and stems of forage rape (*Brassica napus*) as affected by maturity. *Anim. Feed Sci. Tech.* 168:165-178.
- Kelsey, J.A., Corl, B.A., Collier, R.J., Bauman, D.E., 2003. The effect of breed, parity, and stage of lactation of conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:2588-2597.
- Keim, J.P., Cabanilla, J., Bolochi, A.O., Pulido, G.R. Bertrad, A. 2018. *In vitro* fermentation and in situ rumen degradation kinetics of summer forage brassica plants. *Anim. Prod. Sci.* 58 (1):1-10.
- Keim, J.P., Daza, J., Beltrán, I., Balocchi A. O., Pulido G. R., Sepúlveda-Varas P., Pacheco, D., Berthiaume, R. 2020. Milk production responses, rumen fermentation, and blood metabolites of dairy cows fed increasing concentrations of forage rape (*Brassica napus ssp. biennis*). *J. Dairy Sci.* 103:9054-9066.
- Kepler, C.R., Hirans, K.P., McNeill, J.J., Tove, S.B. 1966. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.* 241:1350-1354.
- Kepler, C.R. y Tove, S.B., 1967. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids: Purification and properties of a linoleate 12 *cis* -11 *trans* isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.* 242:5686-5692.
- Khosravi, M., Rouzbehan, Y., Rezaei, M., Rezaei, J. 2017. Total replacement of corn silage with sorghum silage improves milk fatty acids profile and antioxidant capacity of Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 101:1-9.

- Kincaid, R.L., Johnson, K.A., Michal, J.J., Huisman, A.C., Hulbert, S.H., Pan, W.L. 2012. Case study: production of silage containing biennial canola and peas for use as forage in a dairy ration. *Prof. Anim. Scient.* 28:120–124.
- Knapp, J.R., Laur, G.L., Vadas, P.A., Weiss, W.P., Tricarico, J.M. 2014. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *J. Dairy Sci.* 97(6): 3231-3261.
- Kumar, S., Choudhury, P.K., Carro, M.D., Griffith, G.W., Dagar, S.S., Puniya, M., Sirohi, S.K. 2014. New aspects and strategies for methane mitigation from ruminants. *Appl. Microbiol. Biotech.* 98(1): 31-44.
- Ku-Vera, J.C., Jiménez-Ocampo, R., Valencia-Salazar, S.S., Montoya-Flores, M.D., Molina-Botero, I.C., Arango, J., Gómez-Bravo, C.A., Aguilar-Pérez, C.F., Solorio-Sánchez, F.J. 2020. Role of secondary plant metabolites on enteric methane mitigation in ruminant. *Front. Vet. Sci.* 584(7):1-14.
- Laurenco, M., Ramos-Morales, E., Wallace, R.J. 2010. The role microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal.* 4:1008-1023.
- Limón-Hernández, H.D., Rayas, A.A.A., Garcia, M.A., Estrada, F.J.G., Nuñez, L.M., Cruz, M.R.G., Morales, A.E., 2019. Chemical composition, *in vitro* gas production, methane production and fatty acids profile of canola silage (*Brassica napus*) with four levels of molasses. *Trop. Anim. Health Prod.* 51:1-6.
- Liu, Y. y Whitman, W.B. 2008. Metabolic, phylogenetic, and ecological diversity of the methanogenic archaea. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1125(1): 171-189.
- Lordan. R., Tsoupras, A., Mitra, B., Zabetakis, I. 2018. Dairy fats and cardiovascular disease: Do we really need to be concerned? *Foods.* (7) 29: 1-34.
- Madrid J., Megías M.D., Hernández F. 1999 Determination of short chain volatile fatty acids in silages from artichoke and orange by-products by capillary gas chromatography. *J. Sci. Food Agric.* 79:580–584.
- Maia, G.R.M., Chaudhary, C.L., Bestwick, S.C., Richarson, J.A., McKain, N., Larson, R.T., Graham, A.I., Wallace, J.R. 2010. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butiryvivrio fibrisolvens*. *Microbiology.* 10:52-60.

- Mauricio, M.R., Mould, L.F., Dhanoa, S.M., Owen, E., Channa, S.K., Theodorou, K.M. (1999). A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim. Feed Sci. Tech.* 79:321-330.
- Massaretto, I.L., Albaladejo, I., Purgatto, E., Flores, F.B., Plasencia, F., Egea-Fernández, J.M., Egea, I. 2018. Recovering tomato landraces to simultaneously improve fruit yield and nutritional quality against salt stress. *Front Plant Sci.* 1778(9): 1-17.
- McDonald, I. 1981. Short note: A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. *J. Agric. Sci. Cambridge.* 96: 251-252.
- McDonald, P., Edward, A.R., Greenhalgh, D.F.J., Morgan, A.C. 2011. *Nutrición Animal. Acribia S. A. Ed. Septima. España.* p. 31-49.
- McKain, N., Shingfield, K.J. Wallace, R.J. 2010. Metabolism of conjugated linoleic acids and C18:1 fatty acids by ruminal bacteria: products and mechanisms. *Microbiology.* 156:579-588.
- Meale S.J., Chaves A.V., Baah J., McAlister T.A., 2012. Methane production of different forages in *in vitro* ruminal fermentation. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 25: 86-91.
- Megías, M.D., Hernández, F., Madrid, J., Martínez-Teruel, A. 2020. Feeding value, *in vitro* digestibility and *in vitro* gas production of different by-products for ruminant nutrition. *J. Sci. Food Agric.* 85:567-572.
- Mele, M., Serra, A., Buccioni, A., Conte, G., Pollicardo, A., Secchiari, P. 2008. Effect of soybean oil supplementation of milk fatty acid composition from Saanen goats fed diets with different forage:concentrate rations. *Ital. J. Anim. Sci.* 7:297-311.
- Menke, K.H. y Steingass, H. 1998. Estimation of the energetic feed value from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28: 7-55.
- Mills, S.C., Scott, T.W., Rusell, G.R., Smith, R. 1970. Hydrogenation of C18 unsaturated acids by pure cultures of a rumen micrococcus. *Australian J. Biol. Sci.* 23: 1109-113.
- Morales-Almaráz, E. 2008. Modificación del perfil de ácidos grasos de la leche mediante el pastoreo complementario a dietas completas mezcladas. Tesis Doctoral. Zaragoza, España. 321 p.
- Morales-Almaráz, E., Soldado, A., González, A., Martínez-Fernández, A., Domínguez-Vara I.A., De la Rosa-Delgado, B., Vicente, F. 2010. Improving the fatty acid

- profile of dairy cow milk by combining grazing with feeding of total mixed ration. *J. Dairy Res.* 77: 225–230.
- Morales-Almaráz, E., De la Roza-Delgado, B., González, A., Soldado, A., Rodríguez, M.L., Peláez, M., Vicente, F. 2011. Effect of feeding system on unsaturated fatty acid levels in milk of dairy cows. *Renew. Agric. Food Syst.* 26: 224–229.
- Mosley, E.E., Shafii, B., Moate, J.P., McGuire, A.M. 2006. *Cis 9 trans 11* conjugated linoleic acid is synthesized directly from vaccenic acid in lactating dairy cattle. *J. Nutr.* 136 (3): 570-575.
- Nagani, S., Herrero, M., Jessop, N.S. 2000. The effect of fermentable nitrogen availability on in vitro gas production and degradability NDF. *Anim. Feed Sci. Tech.* 168:165-178.
- Neely, C.B., Walsh, C., Davis J. B., Hunt C., Browm, J. 2015. Investigation of early plant winter canola as a dual-purpose. *Crop for Silage and Seed Production. Agron J.* 107(5):1905-1914.
- Niderkorn, V. y Baumont, R. 2009. Associative effects between forages on feed intake and digestion in ruminants. *Animal* 3:951–960.
- Noble, R.C., Moore, J.H., Harfoot, C.G. 1974. Observations on the pattern on biohydrogenation of esterified and unesterified linoleic acid in the rumen. *British J. Nutr.* 31(1): 99-108.
- Norma Oficial Mexicana: NOM-051-ZOO-1995. Trato humanitario en la movilización de animales. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 31 de octubre de 1996.
- Norma Oficial Mexicana: NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 6 de diciembre de 1999.
- NRC- National Research Council. 2007. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids and new world camelids. The National Academic of science. Washington, D.C. USA. 292 pp.
- Nudda, A., Cannas, A., Correddu, F., Atzori, S.A., Lunesu, F. M., Battacone, G., Pulina, G. 2020. Sheep and goats respond differently to feeding strategies directed to improve the fatty acid profile of milk fat. *Animals.* 10:2-22.

- Oh, Y., Kim, J., Kim, K., Choi, C., Kang, S., Nam, I., Kim, D., Song, M., Kim, C. Park, K. 2008. Effects of level and degradability of dietary protein on ruminal fermentation and concentrations of soluble non-ammonia nitrogen in ruminal and omasal digesta of Hanwoo steers. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 21, 392-403
- Palmquist, D.L. y Jenkins, T.C. 2003. Challenges with fats and fatty acid methods. *J. Anim. Sci.* 81:3250-3254.
- Palmer, A.J.M., Jessop, S.N., Fawcett, R., Illius, W.A. 2005. Interference of indirect gas produced by grass silage fermentation acids in an *in vitro* gas production technique. *Anim. Feed Sci. Tech.* 123-124:185-196.
- Park, Y.W., Juarez, M., Ramos, M., Haenlein, G.F.W. 2007. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Rumin. Res.* 68:88-113
- Park, Y.W. 2017. Factors affecting sensory quality of goat milk cheeses: A Review. *J. Adv. Dairy Res.* 5(3): 2-9.
- Pariza, M.W., Park, Y. Cook, M.E., 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog. Lipid Res.* 40:283-298.
- Parodi, P.W. 1999. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J. Dairy. Sci.* 82 (6):1339-1349.
- Patra, A.K., y Yu, Z. 2013. Effects of coconut and fish oils on ruminal methanogenesis, fermentation, and abundance and diversity of microbial populations *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 96(3): 1782-1792.
- Pell, A.N. Schofield, P. 1993. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 76:1063-1073.
- Peréz-Balibrea, S., Moreno, A.D., García-Viguera, C. 2011. Genotypic effects on the phytochemical quality of seeds and sprouts from commercial broccoli cultivars. *Food Chem.* 125:348-354.
- Posada, S.L., Noguera, R.R. 2005. Técnica *in vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Livest. Res. Rural Develop.* 17(4): 1-18.
- Pulido, R. (2010). Dinámica del nitrógeno amoniacal y pH ruminales en vacas a pastoreo. En *Rumen: Morfofisiología, trastornos y modulación de la actividad fermentativa*. 3^{ra} ed. América. Valdivia. 135p.

- Pulina, G., Cannas, A., Serra, A., Vellebella, R., 1991. Determination and estimation of energy value in Sardinian goat milk. In Proc. 45th Congress Societa Italiana Scienze Veterinarie. Altavilla Milicia, Palermo, Italy. p. 1779-1781.
- Ramírez-Bribiesca, J.E. 2018. Eventos químicos-fisiológicos del metano en los rumiantes. AGROProductividad. 11(2): 22-33.
- Reta-Sánchez, D.G., Figueroa-Viramontes, U., Faz-Contreras, R., Núñez-Hernández, G., Gaytán-Mascorro, A., Serrato-Corona, J.S., Payán-García, J.A. 2010. Sistemas de producción de forraje para incrementar la productividad del agua. Rev. Fitotec. Mex. 33: 83-87.
- Reta-Sánchez, D.G., Serrato, C.J.S., Quiroga, G.H.M., Gaytán, M.A., Figueroa, V.U. 2015. Forage yield and chemical composition of canola (*Brassica napus* L.) as affected by sowing methods. Grass Forage Sci. 71 (2), 281–290.
- Salter, M.A. 2013. Dietary fatty acids and cardiovascular disease. Animal. 7(1): 163-171.
- Sánchez-Duarte, J.I., Reta-Sánchez, D.G., Ochoa-Martínez, E., Serrato-Corona, J.S. 2011. Ensilado de canola, una nueva alternativa forrajera en la alimentación del ganado lechero: primeras pruebas de ensilaje realizadas en la Comarca Lagunera. Hoard's Dairyman en Español (Canola silage, a new alternative forage for feeding dairy cattle: first silage trials performed in the Comarca Lagunera). 201: 582-584.
- Sanz-Sampelayo, M.R., Chilliard, Y., Schmidely, P., Boza, J. 2007. Influence of type diet on the fat constituents of goat and sheep milk. Small Rumin. Res. 68: 42-63.
- SAS. 2002. SAS/ STAT™ User's Guide. Statistical analysis system institute Inc. Cary, North Caroline, USA.
- Schofield, P. y Pell, A.N. 1995. Validity of using accumulated gas pressure readings to measure forage digestion *in vitro*: a comparison involving three forages. Nutrition, feeding and calves. J. Dairy Sci. 78: 2230-2238.
- Schulz, F., Westreicher-Kristen, E., Knappstein, K., Molketin, J., Susenbeth, A. 2017a. Replacing maize silage plus soyabean meal with red cloversilage plus wheat in diets for lactating dairy cow. J. Dairy. Sci. 101: 1216-1226.
- Schulz, F., Westreicher-Kristen, E., Molketin, J., Knappstein, K., Susenbeth, A. 2017b. Effect of replacing maize silage with red clover silage in the diet of milk fatty acids composition in cows. J. Dairy. Sci. 101: 1-12

- Sukhhuja, P.S. y Palmquist, D.L. 1998. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and faces. *J. Agr. Food Chem.* 36:1202-1206.
- Sun, X., Henderson, G., Cox, F., Molano, G., Harrison, S.J., Luo, D., Janssen, H.P., Pacheco, D. 2015. Lambs fed fresh winter forage rape (*Brassica napus*) emit less methane than those fed perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and possible mechanisms behind the difference. *Plos One.* 10 (3): 1-16.
- Sun, X. 2020. Invited Review: Glucosinolates might result in low methane emissions from ruminants fed brassica forages. *Front. Vet. Sci.* 7:1-10.
- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., Mc Allan, A.B. and France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feed. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 48:185-197.
- Tripathi, M.K., y Mishra, A.S. 2007. Glucosinolates in animal nutrition: A review. *Anim. feed Sci. technol.* 132(1-2), 1-27.
- Troegeler-Meynadier, A., Nicot, M.C., Bayourthe, C., Moncoulon, R. Enjalbert, F. 2003. Effects of pH and concentrations of linoleic and linolenic acids on extent and intermediates of ruminal biohydrogenation *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 86:4054-4063.
- Ulbricht, T.L.V., Southgate, D.A.T. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet.* 338:985-992.
- Van Nevel, C.J. Demeyer, D.I. 1996a. Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents *in vitro*. *Reprod. Nutr. Dev.* 36(1): 53-63.
- Van Nevel, C.J. y Demeyer, D.I. 1996b. Control of rumen methanogenesis. *Environmental Monitoring and assessment.* 42(1-2):73-97.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991 Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.
- Van Soest, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Chapter 20 in lipids, Cornell University. Press, Ithaca, N. Y.
- Velasco, P., Soengas, P., Vilar, M., Cartea, M.E., Del Rio, M. 2008. Comparison of glucosinolate profiles in leaf and seed tissues of different *Brassica napus* crops. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 133(4): 551-558.
- Vilmar, G. K. (2011). *Bioquímica dos ruminantes*. 3ª ed., aufsm, Brasil. 212p.

- Villalobos, L.A. y Brummer, J.E. 2015. Forage brassicas stockpiled for fall grazing: Yield and nutritive value. *Crop Forage & Turfgrass Management* 1(1):1-6
- Wallace, R.J., Chaudhary, L.C., McKain, N., McEwan, N.R., Richardson, A.J., Vercoe, P.E., Paillard, D. 2006. *Clostridium proteoclasticum*: a ruminal bacterium that forms stearic acid from linoleic acid. *FEMS Microbiology Letters*. 265(2):195-201.
- Wallace, R.J., McKain, N., Shingfield, J.K., Devillard, E. 2007. Isomers of conjugated linoleic acids are synthesized via different mechanisms in ruminal digest and bacteria. *J. Lip. Res.* 48:2247-2254.
- Wang, Y., Jacome-Sosa, M.M., Spencer, D.P. 2012. The role of ruminant *trans* fat as a potential nutraceutical in the prevention of cardiovascular disease. *Food Res. Inter.* 46: 460-468.
- Williams, M.C. 2000. Dietary fatty acids and human health. *Anim. Zootech.* 49: 165-180.
- Williams, O.S.R., Moate, J.P., Deighton, H.M., Hannah, C.M., Wales, J.M., Jacobs, L. J. 2016. Milk production and composition, and methane emissions from dairy cows fed Lucerne hay with forage brassica or chicory. *Anim. Prod. Sci.* 56:304-311.
- Yildiz, S. y Erdogan, S. 2018. Using of sunflower silage instead of corn silage in the diets of goat. *Indian J. Anim. Res.* 52(10):1446-1451.
- Yañez-Ruiz, D.R., Scollan, N.D., Merry, R.J., Newbold, C.J. 2006. Contribution of rumen protozoa to duodenal flow of nitrogen, conjugated linoleic acid and vaccenic acid in steers feed silages different in their water-soluble carbohydrate content. *J. British Nutr.* 96: 861-869.
- Yang, S.L., Bu, D.P., Wang, J.Q., Hu, Z.Y., Li, D., Wei, H. Y., Zhou, L.Y., Looor, J.J. 2009. Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles ruminal microorganisms in dairy cows. *Animal.* 11(3):1562-1569.

X. ANEXOS

X. ANEXOS

Anexo 1. Publicación en Memoria de Congreso Nacional. Avances de la investigación sobre producción animal y seguridad alimentaria en México.



La Asociación Mexicana para la Producción Animal y Seguridad Alimentaria otorga la presente
CONSTANCIA A:
L. A. MEJÍA URIBE, E. MORALES ALMARÁZ, I.A. DOMÍNGUEZ VARA, F. HERNÁNDEZ RUIPÉREZ
POR SU PARTICIPACIÓN CON LA PONENCIA
FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO* DE ENSILADO DE CANOLA ASOCIADO CON ENSILADO DE MAÍZ EN RACIONES COMPLETAS MEZCLADAS
EN LA XLV REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA PARA LA PRODUCCIÓN ANIMAL Y SEGURIDAD ALIMENTARIA.
La cual se llevó a cabo del 13 al 15 de junio del 2018, en la ciudad de Morelia, Michoacán.

 DR. SAMUEL PINEDA GUILLERMO PRESIDENTE DEL COMITÉ ORGANIZADOR LOCAL DIRECTOR INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y FORESTALES	 DR. JOSE HERRERA CAMACHO COORDINADOR GENERAL XLV REUNION CIENTÍFICA DE LA ASOCIACION MEXICANA PARA LA PRODUCCION ANIMAL Y SEGURIDAD ALIMENTARIA	 DR. JUAN CARLOS KU VERA PRESIDENTE ASOCIACION MEXICANA PARA LA PRODUCCION ANIMAL Y SEGURIDAD ALIMENTARIA AC
---	--	---


 SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN




 INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y FORESTALES


 INSTITUTO DE INVESTIGACIONES VETERINARIAS Y ZOOTECNICAS



Morelia, Mich. Mex.

"Avances de la investigación sobre producción animal y seguridad alimentaria en México"/ Editores

José Herrera Camacho et al. -- Primera edición. -- Morelia, Michoacán, México 2018

1327 páginas en las que se incluye cuadros, figuras, ilustraciones y referencias bibliográficas en cada uno de los temas contenidos en la obra

ISBN: 978-607-542-022-6

1. Agricultura – Investigación - México. \ 2. Ganadería – Investigación – México.

\ 3. Seguridad Alimentaria – Biotecnología – Investigación – México.

Primera edición: 2018-07-13

D.R.© Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Av. Francisco J Múgica, Ciudad Universitaria, C.P. 58030, Morelia, Michoacán, México. www.umich.mx

Esta obra consta de 700 ejemplares CD ROOM, 16.4 Mb, en formato PDF y fue dictaminada mediante el sistema de pares ciegos, por un Comité Científico interinstitucional que contó con el apoyo de evaluadores de diferentes Instituciones y dependencias públicas. Las denominaciones empleadas y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, de parte de la Editores, juicio alguno sobre la delimitación de fronteras o límites y la mención de empresas o productos de fabricantes en particular, estén o no patentados, no implica que la editores los apruebe o recomienden de preferencia a otros de naturaleza similar que no se mencionan. Aunque la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, fomenta la reproducción y difusión parcial o total del material contenido, queda prohibida su reproducción total sin contar previamente con la autorización expresa y por escrito del titular, en términos de la Ley Federal de Derechos de Autor. Su uso para fines no comerciales se autorizará de forma gratuita previa solicitud. La reproducción para la reventa u otros fines comerciales, incluidos fines educativos, podría estar sujeta a pago de derechos o tarifas.

FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO*. DE ENSILADO DE CANOLA ASOCIADO CON ENSILADO DE MAÍZ EN RACIONES COMPLETAS MEZCLADAS

Mejía Uribe L. A.¹, Morales Almaráz E.^{1*}, Domínguez Vara I.A.¹, Hernández Ruipérez F.²

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México. Departamento de Nutrición animal. ²Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia, España.

Autor de correspondencia: emoralesa@uaemex.mx

Resumen

Palabras clave: ensilado de canola, fermentación, *in vitro*, digestibilidad

El ensilado de canola (*Brassica napus*) puede ser utilizado como una fuente de forraje en época de otoño- invierno debido a su disponibilidad y adaptabilidad en esta época. El objetivo de este experimento fue evaluar las características de fermentación ruminal *in vitro* en dietas completas mezcladas, adicionando diferentes niveles de ensilado de canola en asociación con ensilado de maíz. Los niveles de inclusión del ensilado de canola fueron: 0, 15, 25 y 35%. El contenido y digestibilidad de fibra detergente neutro disminuyó al incrementar el nivel de ensilado de canola. No hubo diferencia ($P > 0.05$) en la digestibilidad de la materia seca. La fracción soluble se fue incrementando ($P < 0.05$) conforme al aumento de nivel de inclusión de ensilado de canola. El contenido de nitrógeno amoniacal disminuyó ($P < 0.05$) con la inclusión del ensilado de canola. En conclusión, las características *in vitro* del ensilado de canola como fuente de forraje en asociación con ensilado de maíz en dietas completas mezcladas puede ser una alternativa para la alimentación de rumiantes hasta en un 35% base seca, debido a su aceptable porcentaje de digestibilidad.

Anexo 2. Publicación en Memorias de Congreso Internacional.



V JORNADAS DOCTORALES

UNIVERSIDAD DE MURCIA | CAMPUS MARE NOSTRUM
29-30-31 MAYO'19 | ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO UM
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO UPCT

**LA ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
DE LA UNIVERSIDAD DE MURCIA**
Hace constar que,
LUIS ALBERTO MEJIA URIBE
Ha participado presentando el póster:
**Efecto de la inclusión de ensilado de canola
(Brassica napus) sobre la respuesta productiva
y composición química de la leche de cabras**
Murcia, 31 de mayo de 2019



Fdo. María Dolores Hidalgo Montesinos
SECRETARIA ACADÉMICA DE LA ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO DE LA UM



Anexo 3. Artículo publicado (primer experimento).



South African Journal of Animal Science 2021, 51 (No. 2)



Fatty acid profile and in vitro rumen fermentation characteristics of maize silage augmented with canola silage

L. A. Mejía Uribe¹, I. A. Domínguez Vara¹, F. Hernández Ruipérez², A. A. Rayas Amor³ & E. Morales Almaráz^{1*}

¹ Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Estado de México, México

² Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Murcia, España

³ Departamento de Ciencias de la Alimentación de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Lerma, Lerma de Villada, Estado de México, C. P. 52005

(Submitted 7 January 2020; Accepted 11 December 2020; Published 9 March 2021)

Copyright resides with the authors in terms of the Creative Commons Attribution 4.0 South African Licence.

See: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/za>

Condition of use: The user may copy, distribute, transmit and adapt the work, but must recognise the authors and the South African Journal of Animal Science.

Abstract

The objective was to investigate the effect of replacing maize silage (MS) with canola silage (CS) on the chemical composition and fatty acid (FA) profile of total mixed rations (TMR) containing these silages, and on in vitro rumen fermentation and methane production from them. The canola (*Brassica napus* var. Monty) was cultivated on a small-scale agricultural farm and harvested at 148 days after sowing. Maize silage in a TMR was replaced with 0%, 15%, 25%, and 35% CS to make the rations CS0, CS15, CS25, and CS35, respectively. Proximate analyses of the rations were evaluated in a completely randomized design. The results showed that linolenic acid increased linearly with the level of CS, primarily at the expense of linoleic acid. In vitro dry matter digestibility (IVDMD) was similar among treatments. However, in vitro neutral detergent fibre digestibility (IVNDF) decreased linearly ($P < 0.05$) when the CS proportion increased in the TMR. The lowest ammonia nitrogen content ($P < 0.05$) was observed in CS35. The soluble fraction (A) increased ($P < 0.05$) when the CS increased in the TMR from 0% to 35%. In vitro methane (CH₄) production was lowest with CS25 and CS35, decreasing 34% and 23.9%, respectively, compared with CS0. Linolenic acid had a negative correlation with IVNDF ($r = -0.94$; $P < 0.05$). The IVDMD and methane production were positively correlated ($r = 0.60$) ($P < 0.05$). In conclusion, 25% and 35% augmentation of MS with CS in a TMR was an important source of linolenic acid (C18:3) and decreased in vitro methane production.

Anexo 4. Artículo publicado (segundo experimento).

Tropical and Subtropical Agroecosystems 25 (2022): #059

Mejía-Urbe et al., 2022



PRODUCTION AND MILK FATTY ACIDS PROFILE OF DAIRY GOATS FED WITH CANOLA SILAGE (*Brassica napus*) INSTEAD OF CORN SILAGE (*Zea mays*) IN TOTAL MIXED RATIONS †

[PRODUCCIÓN Y PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE DE CABRAS ALIMENTADAS CON ENSILADO DE CANOLA (*Brassica napus*) EN SUSTITUCIÓN DE ENSILADO DE MAÍZ (*Zea mays*) EN RACIONES TOTALMENTE MEZCLADAS]

Luis Alberto Mejía-Urbe¹, Ignacio Arturo Domínguez-Vara¹,
Fuensanta Hernández-Ruipérez² and Ernesto Morales-Almaráz^{1*}

¹ Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, Campus Universitario El Cerrillo Piedras Blancas, C.P. 50090, Toluca, México. Emails: *emoralesa@uaemex.mx, meul83@hotmail.com, igy92@hotmail.com,

² Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Avenida Teniente Flomesta, 5, 30003, Murcia, España. Email: nutri@um.es

*Corresponding author

SUMMARY

Background. Canola silage (EC) is a viable alternative to replace corn silage (EM) in ruminants feed, due to its nutritional value and source of polyunsaturated fatty acids to improve the quality milk fat. **Objective.** To evaluate the inclusion of EC as substitute for of EM in total mixed rations (TMR) on milk production, composition and fatty acids profile of goats at the end lactation. **Methodology.** Ten Alpine goats (49 ± 2.5 kg LW, 194 ± 18 days in lactation) were fed with completely mixed diets containing 25% EC plus 25% EM (experimental diet) and 50% EM (control diet). **Results.** Milk production in goats fed with EC was 33.46% higher ($P < 0.05$) than in goats eating only ME as forage. The content of rumenic and vaccenic acids in milk increased ($P < 0.05$) 60 and 57%, respectively, with the inclusion of EC in the diet. There were not differences ($P > 0.05$) in milk fat, protein and lactose content, nor in dry matter intake between treatments. **Implications.** EC as an alternative forage in combination with EM, it is a viable feeding strategy for small ruminants. **Conclusions.** The use of EC represents a feeding strategy to improve the fatty acid profile of milk without effecting the chemical composition of milk and the productive response of goats at the end of lactation. **Key words:** canola silage; fatty acids; rumenic acid; vaccenic acid; goat milk.