

PRODUCCIÓN DE METANO Y DEGRADACIONES *IN VITRO* DE COMPLEMENTOS PARA BECERROS CON NIVELES CRECIENTES DE VAINA DE *ENTEROLOBIUM CYCLOCARPUM*

Ulises Carbajal-Márquez¹, Paulino Sánchez-Santillán^{2*}, Roberto A. Angulo A.⁴, Rafael A. Rojas-García², Mario A. Mendoza-Núñez²,
Marco A. Ayala-Monter² y Daniel Hernández-Valenzuela³

¹Maestría en Producción de Bovinos en el Trópico, Facultad de Medicina Veterinaria No. 2, Universidad Autónoma de Guerrero, México. C.P. 41940. ²Facultad de Medicina Veterinaria No. 2, Universidad Autónoma de Guerrero, México. C.P. 41940. ³Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Av. Periférico Poniente s/n, col Villa de Guadalupe, C.P. 40040, Iguala de la Independencia, Gro. ⁴Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA), Regional Caldas, Programa AgroSENA. Centro Pecuario y Agroempresarial. La Dorada, Caldas, Colombia. *sanchezsantillanp@gmail.com

Resumen: *El objetivo fue evaluar la producción de gas metano (CH₄) y degradación de materia seca y fibra detergente ácido in vitro de complementos para becerros con niveles crecientes de vaina de Enterolobium cyclocarpum formulados con base al NRC. Los tratamientos fueron la adición de 0 (T1), 25 (T2), 50 (T3) y 75 % (T4) de vaina de E. cyclocarpum. El biodigestor consistió en 0.5 g de complemento, 45 mL de medio de cultivo y 5 mL de fluido ruminal como inóculo y se incubó a 39 °C. Las variables fueron producción parcial a las 24, 48 y 72 h de CH₄, producción acumulada de CH₄, degradación de materia seca (DMS) y degradación de fibra detergente neutro (DFDN). El diseño experimental fue un diseño completamente al azar. La producción parcial y acumulada de CH₄ no mostraron diferencias (p > 0.05) entre complementos. T4 presentó la mayor DMS, 18.2% mayor que T1. La DFDN promedió 63.04 %, sin diferencias entre complementos (p > 0.05). Se concluye, la producción de metano y las degradaciones in vitro de complementos con niveles crecientes de vaina de E. cyclocarpum mediante la técnica de producción de gas no mostró diferencias con el uso de hasta 75% en la elaboración de complementos para becerros en crecimiento.*

Palabras Claves: Metano, degradación materia seca, becerros, *Enterolobium cyclocarpum*.

Abstrac: *The objective was to evaluate the production of methane gas (CH₄) and degradation of dry matter and acid detergent fiber in vitro from calf supplements with increasing levels of Enterolobium cyclocarpum pods formulated based on the NRC. The treatments were the addition of 0 (T1), 25 (T2), 50 (T3) and 75% (T4) of E. cyclocarpum pods. The biodigester consisted of 0.5 g of complement, 45 mL of culture medium and 5 mL of ruminal fluid as inoculum and incubated at 39 °C. The variables were partial production at 24, 48 and 72 h of CH₄, cumulative production of CH₄, degradation of dry matter (DDM) and degradation of neutral detergent fiber (DNDF). The experimental design was a completely random design. The partial and cumulative production of CH₄ showed no differences (p > 0.05) between complements. T4 had the highest DDM, 18.2% higher than T1. The DNDF averaged 63.04%, without differences between complements (p > 0.05). It is concluded that methane production and in vitro degradation of supplements with increasing levels of E. cyclocarpum sheath using the gas production technique showed no differences with the use of up to 75% in the elaboration of supplements for growing calves.*

Keywords: Methane, dry matter degradation, calves, *Enterolobium cyclocarpum*.

Introducción

El uso de recursos forrajeros arbóreos como suplemento es una práctica común en los sistemas de producción de rumiantes en el trópico. La finalidad es mejorar el aporte de energía y proteína, dado que los sistemas de producción dependen de la cantidad y calidad del forraje disponible (1). En el trópico seco y húmedo de México existen especies como *Enterolobium cyclocarpum*, que es considerada como un recurso alimenticio no convencional. La parte utilizable para la alimentación de los rumiantes es el fruto; que consiste en una vaina en forma de oreja, la cual contiene las semillas que están envueltas en una matriz blanda semifibrosa (2). En forma natural, la vaina cae al suelo en los meses de abril a junio y es consumida por el ganado (3). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la producción de metano y las degradaciones *in vitro* de complementos para becerros con niveles crecientes de *E. cyclocarpum*.

Materiales y Métodos

Área de estudio. El trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2 de la Universidad Autónoma de Guerrero, México.

Complementos. Los complementos se elaboraron con ingredientes de la región (Tabla 1). Estos se ajustaron con base en la tasa de crecimiento y la etapa fisiológica de becerros según lo reportado por NRC (4).

Tabla 1. Composición porcentual y química de los complementos elaborados con niveles crecientes de *E. cyclocarpum* para becerros en crecimiento

Ingredientes (%)	T1	T2	T3	T4
Urea	4	4	4	4
Maíz molido	7	7	7	7
Sal mineral	5	5	5	5

Vaina <i>E. cyclocarpum</i>	0	25	50	75
Heno pasto pangola	56.2	37.7	18.8	0
Pasta de soya	27.8	21.5	15.2	8.5
Composición química (%)				
MS (%)	97	99	99	98
EM, Mcal kg	2.13	2.41	2.48	2.66
PC (%)	28.3	28.3	28.2	28.2

T1 = 0% de vaina *E. cyclocarpum*, T2 = 25 % de vaina de *E. cyclocarpum*, T3 = 50 % de vaina de *E. cyclocarpum*, T4 = 75 % de vaina de *E. cyclocarpum*, MS = materia seca, PC = proteína cruda, EM = energía metabolizable.

Medio de Cultivo. El medio contenía 30 mL de fluido ruminal clarificado [líquido ruminal bovino fresco centrifugado 10 minutos a 12,857 x g y esterilizado por 15 min a 121°C y 15 psi], 5 mL de solución mineral I [6 g K₂HPO₄ en 1000 mL de agua destilada], 5 mL de solución mineral II [6 g KH₂PO₄ + 6 g (NH₄)₂SO₄ + 12 g NaCl + 2.45 g MgSO₄ + 1.6 g CaCl-2H₂O en 1000 mL de agua destilada], 0.1 mL de resarzurina a 0.1%, 0.2 g de peptona de soya, 0.1 g de extracto de levadura, 2 mL de solución sulfido-cisteína [2.5 g L-cisteína en 15 mL de 2N NaOH + 2.5 g de Na₂S-9H₂O aforado en 100 mL de agua destilada], 5 mL de solución a 8% de Na₂CO₃ y 52.6 mL de agua destilada (5).

Solución NaOH (2N). En 1 L de agua destilada se disolvieron 80 g de NaOH. La solución se vertió en viales serológicos (60 mL) hasta llenarlos completamente para obtener los viales trampa de NaOH 2N.

Biodigestores. En viales serológicos de vidrio (120 mL) se agregaron 0.5 g de un complemento y 45 mL de medio de cultivo. Los viales se mantuvieron en condiciones anaeróbicas con CO₂, se sellaron herméticamente con un tapón de neopreno (20 mm Ø) y con un arillo de aluminio. Los biodigestores se esterilizaron 15 minutos a 121 °C y 15 psi, y se incubaron 24 h a 39 °C para verificar esterilidad (6). Los biodigestores se inocularon con fluido ruminal de una vaquilla

Suiz-bu y se incubaron en baño maría a 39 °C por 72 h.

Producción de gas metano (CH₄). Una manguera Taygon® (2.38 mm Ø interno y 45 cm de longitud) con agujas hipodérmicas (20 G x 32mm) en los extremos se usaron para acoplar el biodigestor con un vial trampa de NaOH (2N). El vial trampa se colocó de manera inversa en una probeta modificada que sirvió para coleccionar la solución NaOH (2N) desplazada por el gases que se producen durante la incubación mediante una aguja hipodérmica colocada como válvula de salida. La producción de CH₄ se midió a las 24, 48 y 72 horas. La producción de CH₄ se tomó como los mL desplazados de la solución NaOH (2N) (7).

Degradaciones *in vitro*. A las 72 h de incubación, el contenido de los biodigestores se filtró en bolsas ANKOM® a peso constante y se secaron a 60 °C por 24 h en una estufa. La capacidad de degradación de la materia seca (DMS) se calculó con la fórmula: DMS (%) = (g muestra inicial–g muestra final/g muestra inicial) * 100. Las bolsas ANKOM® se sellaron a calor y se determinó el contenido de FDN (8). El porcentaje de degradación de la FDN (% DFDN) se calculó con la formula DFDN (%)= (FDN inicial–FDN no degradado/FDN inicial) * 100 (1).

Análisis estadístico. Los resultados de las variables (5 repeticiones independientes por complemento) se analizaron en un diseño completamente al azar. Los datos se analizaron usando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS® (9) y las diferencias de medias se analizaron usando la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

Resultados y Discusión

La producción parcial de CH₄ a las 24, 48 y 72 h, así como el acumulado no mostraron diferencias entre complementos ($p > 0.05$). Las características bromatológicas de un producto

sometido a fermentación ruminal es uno de los principales factores que influyen en la producción de CH₄ y la fermentación de carbohidratos estructurales por bacterias celulolíticas también genera mayor producción de CH₄, (7).

Tabla 2. Producción parcial y acumulada de metano y degradaciones *in vitro* de complementos para becerros con niveles crecientes de vaina de *Enterolubium cyclocarpum*

Variables	T0	T25	T50	T75	EEM
*CH ₄ -24h	38.2	46.6	46.6	47.9	1.52
*CH ₄ -48h	8.8	9.0	8.8	10.2	0.26
*CH ₄ -72h	5.8	5.4	5.4	5.4	0.16
**CH ₄ ac.	52.8	60.9	60.9	63.5	1.66
DMS	69.7 ^d	74.7 ^c	78.7 ^b	82.4 ^a	1.24
DFDN	62.5	63.3	63.9	62.5	0.39

^{a,b,c,d} Medias por fila con diferente letra indican diferencias ($p < 0.05$). *Producciones parciales a las 24, 48 y 72 h de metano en (mL g⁻¹ MS), **Producción acumulada de metano en (mL g⁻¹ MS), DMS = degradación de materia seca (%), DFDN = degradación de fibra detergente neutro (%), EEM = error estándar de la media.

Lo anterior indica, la inclusión de vaina de *E. cyclocarpum* no modifica la producción *in vitro* de CH₄ (Tabla 2). Sin embargo, Hernández-Escobar *et al.* (10) reportaron valores inferiores al presente estudio con 13.89 mL g⁻¹ MS de CH₄ en dietas con 15 % de vaina de *E. cyclocarpum*.

La degradación de la materia seca (DMS) aumento ($p < 0.05$) conforme se incrementó la inclusión de vaina de *Enterolubium cyclocarpum* a los complementos (Tabla 2), siendo T4 el de mayor DMS, 18.2 % mayor que T1. Esto se puede atribuir a que la vaina de *E.*

cyclocarpum contiene 28 % de FDN y 20 % de FDA, propiciando que el contenido de nutrientes degradables aumente durante el tiempo de fermentación en el biodigestor; ya que DMS superiores a 60 % de alimentos para rumiantes se relacionan con bajas concentraciones de fibras detergentes (1). Los resultados del presente

estudio concuerdan con otros autores quienes clasifican a las vainas de leguminosas como alimentos de buena calidad para rumiantes (11,12).

La degradación de la fibra detergente neutro (DFDN) no mostró diferencias entre complementos ($p > 0.05$). Esto no concuerda con los resultados de DMS del presente estudio. Una razón pueden ser los componentes vegetales involucrados en la autoprotección que limitan su valor nutricional, como las saponinas (13); ya que estas pueden causar una reducción significativa en la degradación del sustrato (14,15) por una disminución en la actividad enzimática.

Conclusiones

La producción parcial y acumulada de metano, y degradaciones *in vitro* de materia seca y fibra detergente neutro de complementos con niveles crecientes de vaina de *Enterolobium cyclocarpum* mediante la técnica de producción de gas mostró que no hay efecto de reducción de metano o disminución de la degradación usando hasta 75% en la elaboración de complementos.

Bibliografía

- [1]. Hernández-Morales, J; Sánchez-Santillán, P; Torres-Salado, N; Herrera-Pérez, J; Rojas-García, R.A; Reyes-Vázquez, I; y Mendoza-Núñez, M.A. Composición química y degradaciones *in vitro* de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México. Revista Mexicana Ciencias Pecuarias. 2018. 9(01):105-120.
- [2]. Serratos-Arévalo, J. C; Carreón-Amaya, J; Castañeda-Vázquez, H; Garzón-De la Mora, P; y García-Estrada, J. Composición químico-nutricional y de factores antinutricionales en semillas de parota (*Enterolobium cyclocarpum*) Interciencia. 2008. 33 (11): 850-854.
- [3]. Piñeiro-Vázquez, A.T; Ayala-Burgos, A.J; Chay-Canul, A.J; and Ku-Vera, J.C. Dry matter intake and digestibility of rations replacing concentrates with graded levels of *Enterolobium cyclocarpum* in Pelibuey lambs. Trop Anim Health Prod. 2013. 45:577-583
- [4]. NRC. Nutrient Requirements of Small Ruminants. Animal Nutrition Series. The National Academies Press. Washington, D.C. 2000. 362.
- [5]. Sánchez-Santillán, P; Cobos-Peralta, M.A; Hernández-Sánchez, D; Alvarado, A.I; Espinosa, V.D; y Herrera-Haro, J.G. Uso de carbón activado para conservar bacterias celulolíticas liofilizadas. Agrociencia. 2016. 50(5):575-582.
- [6]. Herrera-Pérez, J; Velez-Regino, L; Sánchez-Santillán, P; Torres-Salado, N; Rojas-García, R.A; y Maldonado-Peralta, M. Fermentación *in vitro* de consorcios bacterianos celulolíticos ruminales de búfalos de agua en sustratos fibrosos. Rev.MVZ Córdoba. 2018. 23(3):6860-6870.
- [7]. Torres-Salado, N; Sánchez-Santillán, P; Rojas-García, AR; Herrera-Pérez, J; y Hernández-Morales, J. Producción de gases efecto invernadero *in vitro* de leguminosas arbóreas del trópico seco mexicano. Archivos de Zootecnia. 2018. 67(257):55-59.
- [8]. Van Soest, P. J; Robertson, B.J; and Lewis, A.B. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science. 1991. 74(10):3583-3597.
- [9]. SAS. SAS/STAT Software. Versión 9.3. Cary, NC SAS, USA: Institute INC. 2011.
- [10]. Hernández-Escobar, M.R; Pinto-Ruiz, R; Ley de Coss, A; Raj-Aryal, D; Hernández-Sánchez, D; Jimenez, J.A; y Gomez-Castro, H. Producción de gas de efecto invernadero de dietas para bovinos con especies arbóreas con altos contenidos de metabolitos secundarios. XLIV reunion científica AMPA clima y ganaderia productividad sustentable. 2017. 447-451.
- [11]. Velázquez, A.J; González, R.M; Bórquez, J; Domínguez, I.A; y Perezgrovas, R. Composición química y producción de gas *in vitro* de dietas con vainas de *Acacia farnesiana*. Arch. Zootec. 2011. 60 (231): 637-645.
- [12]. Delgado, D.C; Hera, R; Cairo, J; y Orta, Y. *Samanea saman*, árbol multipropósito con potencialidades como alimento alternativo para animales de interés productivo. Revista Cubana de Ciencias Agrícolas. 2014. 48(3): 205-212.
- [13]. Roa, V.M; y. Muñoz, M.J. Evaluación de la degradabilidad *in situ* en bovinos suplementados con cuatro especies de árboles. Revista MVZ Córdoba. 2012. 17(1): 2900-2907.
- [14]. Wina, E; Muetzel, S; y Becker, K. The impact of saponins or saponin-containing plant material on ruminant production-A Review. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2005. 53: 8093-8105.
- [15]. Carmona, A.J.C. Efecto de la utilización de arbóreas y arbustivas forrajeras sobre la dinámica digestiva de bovinos. Revista Lasallista de investigación. 2007. 4 (1): 40-50.

Agradecimientos

Al cuerpo académico UAGro-CA-183 Producción Sustentable de Rumiantes en el Trópico.