

ESTUDIO IN VITRO DEL POTENCIAL DE DESTRIOS DE INVERNADERO PARA REEMPLAZAR A LOS CEREALES EN LA DIETA DE CAPRINO Y PARA REDUCIR LA PRODUCCIÓN DE METANO

Romero-Huelva, M, Martín-García, A. I., Nogales, R. y Molina-Alcaide, E.
Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1, 18008 Granada
manuel.romero@eez.csic.es

INTRODUCCIÓN

La producción de pequeños rumiantes en el área mediterránea se encuentra limitada por la escasez de pastos, siendo una práctica frecuente en el sector ganadero el uso de concentrados basados en cereales. En los últimos años se ha producido un aumento creciente de los precios de los cereales y otras materias primas (FAO, 2010), como consecuencia de la especulación internacional en los precios, las malas cosechas en los principales países productores, la creciente demanda de los países en vías de desarrollo y su uso para la producción de biocombustibles. Es esencial encontrar alternativas locales al uso de cereales en la alimentación del ganado. Los invernaderos del área mediterránea, entre los que predominan los cultivos de tomate y pepino, generan grandes cantidades de destrios (700.000 y 80.000 Tm, respectivamente) que podrían incorporarse a las dietas de rumiantes incluidos en bloques multinutrientes (Molina-Alcaide et al., 2010; Romero-Huelva et al., 2012, 2013). Los rumiantes juegan un papel importante en el cambio climático, contribuyendo aproximadamente al 45% de las emisiones de metano, gas con mayor potencial de efecto invernadero (Steinfeld et al., 2006) que el CO₂. El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de sustituir distintas cantidades de un concentrado comercial por bloques multinutrientes, que incluyen cebada o 650 g/kg de materia fresca de tomate, pepino o una mezcla de ambos sobre la fermentación ruminal y la producción de metano *in vitro*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se empleó un sistema *in vitro* de cultivos no renovados de microorganismos ruminales (Theodorou et al., 1994) para incubar una dieta control (CO) compuesta por heno de alfalfa y un concentrado comercial en la relación 1:1, y 9 dietas experimentales en las que se sustituyó el 50, 75 y 100% del concentrado por bloques multinutrientes que incluían destrios de tomate (dietas T50, T75 and T100, respectivamente), pepino (dietas P50, P75 and P100, respectivamente) o cebada (dietas C50, C75 and C100, respectivamente). Se realizaron tres series de incubación idénticas, cada una de 72 h de duración. En cada serie se incubaron, por triplicado, 500 mg de materia seca de las diferentes dietas en botellas Wheaton de 120 ml a 39°C. El primer día de cada serie de incubación, cada botella se inoculaba con 50 ml de una mezcla (1:4 vol:vol) de líquido ruminal y una solución tampón (Goering y van Soest, 1970). El contenido del rumen se obtuvo antes de la primera toma de alimento del día de tres cabras de raza granadina (46,9 ± 2,15 kg PV) dotadas de cánula ruminal, se mezcló y se filtró, de acuerdo con el protocolo de Theodorou et al. (1994), con algunas modificaciones. Se midió la presión y el volumen de gas producido a las 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48 y 72 horas tras el inicio de la incubación. A las 24 y 72 horas de incubación se tomaron muestras del gas de fermentación producido para determinar su concentración en CH₄, mediante cromatografía gaseosa, se abrieron las botellas, se midió el pH del contenido y se detuvo la fermentación introduciendo las botellas en hielo. A continuación, se tomaron alícuotas del contenido de las botellas para la determinación de las concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV) siguiendo el procedimiento descrito por Isac et al (1994) y, el contenido restante se liofilizó para analizar los contenidos en MS y FND. La composición química de las dietas se determinó según los procedimientos de la AOAC (2005). La producción de gas se ajustó al modelo de France et al. (2000): $y = A [1 - e^{-ct}]$ donde y representa la producción acumulada de gas (ml), t el tiempo de incubación (h), A la asíntota (gas total, ml) y c es la tasa de producción de gas (h⁻¹). El análisis estadístico de los datos experimentales se realizó siguiendo un modelo univariante del procedimiento GLM del programa SPSS (IBM SPSS Statistics v.19, IBM Corp., Somers, NY). Las diferencias entre medias se analizaron empleando el test de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los bloques multinutrientes mostraron un mayor contenido en PB, FND, FAD y LAD, y menores de MO, EE y EB en comparación con el concentrado (Tabla 1). El tipo de bloque no afectó ($P>0,25$) a ninguno de los parámetros de fermentación ruminal ni a la digestibilidad de las dietas (Tabla 2). El nivel de sustitución de concentrado por bloque sí afectó a la mayoría de los parámetros estudiados. La concentración de CH_4 se redujo ($P<0,001$) con niveles de sustitución $\geq 75\%$. La reducción en la producción de gas y AGV totales ($P\leq 0,042$), y el aumento de la relación acético/propiónico y de la producción de acético ($P\leq 0,023$), podrían estar asociados con el aumento progresivo del contenido en celulosa y la reducción del contenido en carbohidratos fácilmente degradables en aquellas dietas que incluían niveles crecientes de bloques multinutrientes (Beever et al., 1989). La relación acético/propiónico aumentó ($P\leq 0,023$) con niveles de sustitución $\geq 75\%$. Sin embargo, las proporciones molares de butírico disminuían ($P<0,001$) al reemplazar el 75% del concentrado por bloques, posiblemente debido a una reducción del contenido en carbohidratos no estructurales en la dieta (Getachew et al., 2004). Además, la presencia de compuestos secundarios bioactivos en los bloques podría modificar la fermentación ruminal, inhibiendo la metanogénesis por mecanismos aún desconocidos (Newbold et al., 2004). No se observó interacción ($P\geq 0,14$) entre el tipo de bloque y el nivel de sustitución del concentrado.

Tabla 1. Composición química de los ingredientes de las dietas experimentales (g/kg materia seca)

	Heno de alfalfa	Concentrado	Bloque T	Bloque P	Bloque C
MS, g/kg de materia	929	884	919	933	932
MO	899	896	794	782	795
PB	152	150	162	166	164
FND	551	372	478	459	492
FAD	371	148	284	276	295
LAD	87	27	49	49	53
Extracto etéreo	14,1	27,1	5,06	3,84	3,76
EB, MJ/kg de MS	16,8	18,4	15,9	15,5	15,4

Tabla 2. Efecto de la sustitución parcial del concentrado por bloques multinutrientes sobre la producción de gas total y de metano, fermentación ruminal y digestibilidad verdadera de las dietas tras 24 horas de incubación en botellas Wheaton.

	Bloque ¹			Nivel de sustitución				EEM ²	P-value		
	T	P	C	0	50	75	100		TB ³	NS ⁴	TB×N
pH	6,68	6,68	6,68	6,61 ^a	6,66 ^b	6,68 ^c	6,71 ^d	0,002	0,74	<0,001	0,75
Gas, mL/g MS incubada	176	173	177	214 ^d	188 ^c	176 ^b	163 ^a	0,53	0,27	<0,001	0,81
CH_4 , mL/ mL gas total prod	0,19	0,19	0,19	0,20 ^b	0,20 ^b	0,19 ^{ab}	0,17 ^a	0,001	0,99	<0,001	0,93
CH_4 , mL/g MS incubada	34,0	33,3	33,9	42,2 ^d	37,5 ^c	33,5 ^b	30,2 ^a	0,25	0,89	<0,001	0,85
CH_4 /AGV, mL/mmol	6,94	6,81	7,09	7,83 ^c	7,60 ^{bc}	6,74 ^{ab}	6,40 ^a	0,12	0,91	<0,001	0,99
A, mL	104	104	107	120 ^c	110 ^b	105 ^a	100 ^a	0,63	0,51	<0,001	0,99
c, h ⁻¹	0,08	0,07	0,07	0,092 ^c	0,083 ^b	0,078 ^a	0,071 ^a	0,001	0,58	<0,001	0,99
AGV totales, mmol	2,47	2,48	2,40	2,71 ^b	2,49 ^{ab}	2,52 ^{ab}	2,37 ^a	0,041	0,93	0,042	0,99
AGV, mmol/100 mol											
Acético	70,9	71,6	71,4	69,7 ^a	70,1 ^a	71,8 ^b	71,8 ^b	0,17	0,74	<0,001	0,97
Propiónico	16,5	16,4	16,4	16,6	16,4	16,4	16,5	0,057	0,80	0,33	0,98
Iso-butírico	0,81	0,82	0,82	0,81	0,79	0,77	0,85	0,024	0,83	0,65	0,14
Butírico	9,38	9,01	9,30	10,7 ^c	10 ^{bc}	9,10 ^{ab}	8,58 ^a	0,16	0,93	<0,001	0,99
Iso-valérico	1,36	1,33	1,21	1,40	1,46	1,12	1,30	0,063	0,92	0,31	0,99
Valérico	1,04	0,84	0,96	0,74	1,15	0,76	0,93	0,086	0,94	0,27	0,99
Acético/propiónico	4,29	4,38	4,37	4,19 ^a	4,28 ^{ab}	4,37 ^b	4,37 ^b	0,022	0,69	0,023	0,97
Digestibilidad MS, g/g ⁵	0,68	0,69	0,69	0,75 ^d	0,72 ^c	0,69 ^b	0,65 ^a	0,002	0,25	<0,001	0,83
Digestibilidad FND, g/g	0,36	0,38	0,39	0,45 ^d	0,42 ^c	0,39 ^b	0,32 ^a	0,003	0,29	<0,001	0,87

¹Bloques que incluyen destríos de tomate (T), pepino (P), una mezcla de tomate y pepino (TP) y cebada (C). ²Error estándar de la media. ³Tipo de bloque. ⁴Nivel de sustitución.

⁵Calculado según van Soest et al. (1966): Digestibilidad real MS = (input MS – output FND)/input MS, siendo el output FND el analizado en el residuo tras 24 h de incubación.

La digestibilidad de la MS y FND se redujo ($P < 0,001$) con niveles crecientes de sustitución del concentrado por bloques. Estos resultados están en consonancia con los obtenidos por Ben Salem & Znaidi (2008) quienes observaron una menor digestibilidad de la MS y FND en corderos alimentados con dietas que incluían bloques multinutrientes. Las proporciones molares de propiónico, isobutírico, isovalérico, y valérico no se vieron afectadas ($P \geq 0,27$) por el nivel de sustitución.

La sustitución de concentrado por bloques que incluyen destríos de invernadero modificó la fermentación ruminal *in vitro*, la digestibilidad de la MS y FND y tuvo un efecto antimetanogénico, siendo el efecto tanto más pronunciado cuanto mayor era la cantidad de concentrado que se sustituía por bloques. Los resultados apuntan un potencial interesante de los destríos de invernadero para disminuir las emisiones de metano en rumiantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA. 2005. 18th ed. • Beever, D., Cammell, S., Sutton, J., Spooner, M., Haines, M., & Harland, J. 1989. *Proceedings 11th Symposium on Energy Metabolism EAAP*, Publication No:43.33. • Ben Salem, H., Znaidi, A. 2008. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147:206-222. • FAO, Índice de Precios de los Alimentos. 2010. <http://www.fao.org/worldfoodsituation/FoodPricesIndex/en/>. • France, J., Dijkstra, J., Dhanoa, M. S., López, S. & Bannink, A. 2000. *Br. J. Nutr.* 83:143-150. • Getachew, G., Robinson, P. H., DePeters, E. J., Taylor, S. J. 2004. *Anim. Feed Sci. Tech.* 111:57-71. • Goering, M. K., & van Soest, P. J. 1970. *Agric. Handbook*. Nº 379. • Isac, M. D., García, M. A., Aguilera, J. F. & Molina Alcaide, E. 1994. *Arch. Tierernahr.* 46:37-50. • Molina-Alcaide, E., Morales-García, E. Y., Martín-García, A. I., Ben Salem, H., Nefzaoui, A., & Sanz-Sampelayo, M. R. 2010. *J. Dairy Sci.* 93:2076-2087. • Newbold, C.J., McIntosh, F.M., Williams, P., Riccardo L., & Wallace R.J. 2004. *Anim. Feed Sci. Tech.* 114:105-112. • Romero-Huelva, M., Ramos-Morales, E., & Molina-Alcaide, E. 2012. *J. Dairy Sci.* 95:6015-6026. • Romero-Huelva, M., & Molina-Alcaide, E. 2013. *J. Anim. Sci.* En prensa. • Steinfield, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., & Rosales, M. 2006. Food & Agriculture Organization of the UN FA; 9251055718. • Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, A. B. & France, J. 1994. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48:185-197.

Agradecimientos: trabajo financiado por la Junta de Andalucía (Proy. Excelencia P05-AGR-00408 y P07-RNM-02746). Gracias a J. Fernández y T. García por su ayuda técnica. Manuel Romero agradece al CSIC por la beca JAE-pre concedida.

POTENCIAL OF GREENHOUSE WASTES TO REPLACE CEREAL IN GOAT DIETS AND REDUCE METHANE PRODUCTION IN VITRO

ABSTRACT: The aim of this work was to evaluate the effect of replacing 0, 50, 75 or 100% of cereals-based concentrate in diets based on alfalfa hay with feed blocks including barley grain or 650 g/kg fresh matter of greenhouse waste fruits (tomato or cucumber) on the *in vitro* ruminal fermentation, digestibility and methane production. Three incubation runs were carried out in batch cultures of mixed rumen microorganisms. Kinetics of gas production were valuated based on the model $y = A [1 - e^{-ct}]$. The type of feed-blocks did not show any effect ($P \geq 0.14$). However, the level of concentrate replacement with blocks affected ($P \leq 0.023$) the pH, CH₄ concentration, degradation rate, total gas, CH₄ and total VFA productions, acetate/propionate and CH₄/Total VFAs ratios and molar proportions of acetate and butyrate. Results from this experiment indicate that increasing levels of concentrate replacement with feed blocks modified ruminal fermentation, DM and NDF digestibility and had an antimethanogenic effect.

Keywords: feed blocks, greenhouse wastes, methane production, ruminal fermentation, cereals based concentrate.