

EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD METANOGENICA Y CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUIMICA DE LA GALLINAZA Y EL ESTIERCOL DE CONEJO

Ferrer, P., Cambra-López, M., Borrás, M., Cerisuelo, A., Maset, V*.

*Centro de Investigación de Tecnología Animal (CITA-IVIA). Pol. de la Esperanza Nº 100. 12400, Segorbe, Castellón, España. E-mail: maset_ver@gva.es.

INTRODUCCIÓN

El tracto intestinal de los vertebrados alberga un gran número de microorganismos que permiten la degradación de los biopolímeros orgánicos (Hackstein y Alen, 1996). Como resultado de esta degradación, se generan ácidos grasos volátiles (AGV), hidrógeno (H_2) y dióxido de carbono (CO_2). No obstante, acumulaciones excesivas de H_2 pueden inhibir el metabolismo de las bacterias fermentativas, por ello bacterias acetogénicas y arqueas metanogénicas eliminan el H_2 producido en la fermentación, estableciéndose una relación de simbiosis entre estas poblaciones bacterianas. Sin embargo las bacterias acetogénicas y arqueas metanogénicas, además de H_2 , consumen AGV producidos en la fermentación, lo que supone una pérdida de energía para el animal hospedador. Además, el metano (CH_4) producido por las arqueas metanogénicas es un gas efecto invernadero, siendo el rumen, en primer lugar seguido de la descomposición anaeróbica de los estiércoles, las dos principales fuentes de emisión de este gas de la ganadería (Zhou et al., 2007).

La actividad bacteriana, en especial, la actividad metanogénica de las heces puede ser medida in vitro por medio de técnicas de acumulación de gas. Estas técnicas se llevan a cabo en condiciones estrictamente anaeróbicas y han sido ampliamente utilizadas para examinar la actividad microbiana de fuentes como el rumen (Theodorou, 1994), contenidos gastrointestinales y heces encerdos (Bauer et al., 2004; Awati et al, 2005; Bindelle et al, 2007) y contenido cecal de conejos (Lavrencic et al, 2007). Sin embargo, esta técnica se ha utilizado raras veces para estudiar la actividad microbiana de las heces de conejo y de las aves. La obtención de información acerca del potencial metanogénico de las heces de estas especies es necesaria para estimar las emisiones de CH_4 de este tipo de estiércoles durante el almacenamiento. El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad metanogénica del estiércol de conejo y de la gallinaza, a través de la medición in vitro de la producción de CH_4 y CO_2 de estos sustratos y el análisis de su composición físico-química.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estiércol utilizado en este estudio se obtuvo de ocho granjas ubicadas en la provincia de Valencia, cuatro de conejos y cuatro de gallinas ponedoras. Las muestras se tomaron en distintos puntos de la fosa o de la cinta situada bajo las jaulas de los animales y del estiércol almacenado en el exterior de las naves. Las muestras fueron conservadas a 4°C hasta el procesamiento en el laboratorio. Cada una de las muestras fue dividida en alícuotas, previa determinación del pH, y congeladas posteriormente a -30°C para su análisis físico-químico. Se analizó el contenido en sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV), cenizas (ASH), nitrógeno total Kjeldahl (NTK) y pH según la metodología propuesta por la APHA (2005). La concentración de los ácidos grasos volátiles (AGV) se determinó por cromatografía de gases según el método descrito por Jouany (1982) con la adición de un patrón interno (valérico 4-metil). La fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y la lignina (ADL) se determinaron de acuerdo con el procedimiento empleado por Van Soest (Van Soest et al., 1991). Todas las muestras fueron analizadas por duplicado.

Los ensayos in vitro para determinar la producción de gas y la concentración de CH_4 se realizaron en botellas de 120ml, por triplicado. Cada botella se llenó hasta un volumen de 50% de su capacidad, además se añadió una solución de macro y micro nutrientes de acuerdo a la norma UNE-EN 11734:1999. Las botellas se incubaron a $35 \pm 1^\circ C$ durante un mínimo de 42 días y un máximo de 105 días hasta que el error estándar del promedio de la producción de gas durante las últimas tres semanas fuese inferior al 5%. La producción de gas se midió dos veces por semana con un manómetro (Delta Ohm, HD 9220). La concentración de CH_4 se analizó por cromatografía con un cromatógrafo de gases (Thermo, Milán, Italia), equipado con un split / splitless y un detector de ionización de llama. Los resultados obtenidos fueron analizados con el programa estadístico SAS System® Software (versión 9.0, SAS Inst. Inc., Cary, NC) mediante un ANOVA (procedimiento GLM de SAS®).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis físico-químico de composición del estiércol de aves y de conejos se resumen en la Tabla 1. El contenido en ST, SV, pH y fibra fue significativamente superior ($P < 0.05$) en el estiércol de conejo en comparación con la gallinaza. Sin embargo, el contenido en NTK fue significativamente inferior ($P < 0.05$) en el estiércol de conejo en comparación con la gallinaza. Así mismo, el contenido en AGV fue inferior ($P < 0.10$) en el estiércol de conejo en comparación con la gallinaza. Estas diferencias en la composición de los estiércoles de conejo y aves pueden deberse a diferencias en la fisiología digestiva entre estas dos especies. A diferencia de las aves, los conejos exhiben un mecanismo digestivo para incrementar la eficiencia de utilización de nitrógeno basado en la producción de dos tipos de heces, heces duras y blandas. Las heces blandas, con mayores contenidos en nitrógeno suelen ser ingeridas (coprofagia) por los conejos una vez defecadas para aumentar la eficiencia de la digestión de la materia seca, principalmente nitrógeno. Sin embargo, la eficiencia de utilización de la fracción fibrosa no incrementa mediante este proceso (Slade y Hintz, 1969), esto y el hecho de que los piensos que se formulan para conejos presentan mayores niveles de fibra explicaría el mayor contenido de todas las fracciones de fibra analizadas en el estiércol de conejo.

La Tabla 1 presenta también, la producción de biogás acumulada (compuesta por CH_4 y CO_2) y la concentración de CH_4 obtenida tras la incubación in vitro de los estiércoles. Tradicionalmente, el CH_4 ha sido considerado como un indicador del proceso de fermentación, siendo proporcional al grado de digestión microbiana de los carbohidratos (Jonhson y Ward, 1996). Tanto los conejos como los rumiantes consumen una mayor cantidad de fibra que las aves de corral y por lo tanto deberían tener una mayor capacidad fermentativa que éstas. Sin embargo las emisiones de metano del estiércol de conejo resultaron significativamente inferiores ($P < 0,05$) a las de la gallinaza. El elevado contenido en fibra no degradable y lignina en las heces de conejo podría explicar estas diferencias ya que la eficiencia en la producción de metano de residuos lignocelulosos puede ser limitada por la baja biodegradabilidad de la lignina (Wang, 2009). En conejos, la fibra es necesaria principalmente para reducir el tiempo de retención de los sustratos en el tracto gastrointestinal asegurando el buen desarrollo del ritmo circadiano, y para favorecer el crecimiento de bacterias y mejorar la salud intestinal. No obstante, tiempos de retención más cortos en el intestino grueso pueden suponer una baja concentración de bacterias metanogénicas en el tracto intestinal. Además, el menor contenido en bacterias metanogénicas en el estiércol de conejo también puede deberse a un factor genético ya que como sugieren Hackstein y van Alen (1996), hay especies estrictamente vegetarianas, como los pandas que no emiten CH_4 , mientras que reptiles depredadores como los cocodrilos y algunas especies de serpientes liberan grandes cantidades de este gas. La metanogénesis supone un menor rendimiento energético de los AGV en el tracto intestinal de los animales vertebrados, ya que éstos los consumen las bacterias en lugar del huésped, por lo que menores concentraciones de bacterias metanogénicas podrían suponer una mejor adaptación genética en estas especies de vertebrados a la utilización energética de la dieta (Váradyová et al 2000).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA. 2005. 21th Edn. Greenberg A. E.; Clesceri, L. S., Eaton, A.D. (Eds.) American Public Health Association, Washington DC, USA.
- Awati, A., Konstantinov, R., Williams B. A., Akkermans A.D.L., Bosch M.W., Smidt, H. y Verstege, M.W.A. 2005. *J Sci Food Agric* 85:1765–1772.
- Bauer, E., Williams, B. A., Bosch, M. W., Voigt, C. Mosenthin, R. y Verstege, M.W.A. 2004. *J Sci Food Agric* 84: 2097–2104.
- Bindelle, J., Buldgen, A., Boudry C., Leterme P. 2007. *Animal Feed Science and Technology* 132: 111–122.
- Hackstein, J. H. P. y van Alen, T. A. 1996. *Evolution*, 50(2): 559-572.
- Johnson, D. E. y Ward, G. M. 1996. *Environmental Monitoring and Assessment* 42:133-141.
- Jouany, J P. 1982. *Scienc. Alimen.* 2(2): 131-144.
- Lavrencic, 2007. *Animal*, 1:241-248.
- SAS. 2001. *SAS User's Guide: Statics*. Ver. 9.0. Cary, N.C.: SAS Institute Inc.
- Slade, L. M. y Hintz, H. F. 1969. *J Anim Sci* . 28:842-843.
- Van Soest, P.J.; Robertson, J.B; Lewis, B.A. 1991. *J. Dairy Sci.* 74(10), 3583-3597.
- Theodorou, M. K. 1994. *Anim Feed Sci Tech* 48(3/4), 185-197.
- Váradyová, Z., Zeleňák, I.,

Siroka, P. 2000. Anim Feed Sci Tech83: 127-138. •Vermorel, M., Jouany, J.-P., Eugène, M., Sauvan, D., Noblet, J., Dourmad J.-Y. 2008. INRA Prod. Anim., 21 (5): 403-418. •Wang, G. 2009. Waste Manage. 29(11), 2830-2835. •Zhou, J.B., Jiang M.M., Chen, G.Q. 2007. Energy Policy 35: 3759–3767.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto Agrobiogás, financiado por la fundación Agroalimed perteneciente a la Conselleria de Agricultura de la Comunidad Valenciana.

Tabla1. Composición química y producción de metano y de biogás in vitro del estiércol de conejo y la gallinaza.

	Gallinaza	Estiércol de conejo	EEM	P-valor
Sólidos totales, g kg ⁻¹ MF	300,48	460,50	23,217	<0,01
Sólidos volátiles, g kg ⁻¹ MF	208,44	336,25	29,210	<0,05
pH	6,92	8,19	0,273	<0,05
Nitrógeno total Kjeldahl, g kg ⁻¹ MF	20,57	11,54	2,569	<0,05
Fibra neutro detergente, g kg ⁻¹ MF	87,26	244,17	14,121	<0,001
Fibra ácido detergente, g kg ⁻¹ MF	37,08	154,43	6,500	<0,001
Lignina, g kg ⁻¹ MF	4,23	44,48	1,562	<0,001
Ácidos grasos volátiles, g kg ⁻¹ MF	13,35	1,08	4,365	<0,1
Metano, ml CH ₄ g ⁻¹ SV _i	93,86	57,64	7,892	<0,05
Biogás acumulado, ml biogás g ⁻¹ SV _i	341,21	207,19	30,234	<0,05

EVALUATION OF LAYING HENS AND RABBIT MANURE IN VITRO METHANOGENIC ACTIVITY AND PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION

ABSTRACT: Organic matter degradation in anaerobic conditions leads to the generation of volatile fatty acids, carbon dioxide, hydrogen and methane. Moreover, the methane produced by methanogenic archaea is a greenhouse gas, being anaerobic degradation during manure storage one of major methane emission sources within livestock production. The objective of this study was to evaluate methanogenic activity in rabbit manure and laying hen manure using in vitro techniques based on gas accumulation, to measure biogas (methane and carbon dioxide) production and determine manure physico-chemical composition. Manure from eight different farms was sampled and introduced in batch anaerobic incubators, stored at 35°C. Manure composition showed significant differences ($P < 0.05$) on total solids, volatile solids, pH and fibre content between species, being higher in rabbit manure compared with laying hen manure, whereas total Kjeldahl nitrogen content was significantly lower ($P < 0.05$) in rabbit manure. The biogas values varied from 341 to 207 L biogas kg⁻¹ VS. Methane emissions from rabbit manure were significantly lower ($P < 0.05$) compared with laying hen manure.

Keywords: methane, manure composition, livestock, anaerobic degradation