

## Efecto de la inclusión de fuentes amiláceas en la población de bacterias metanogénicas y metano ruminal en dietas con caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) fermentada *in vitro*

Juana Galindo, A. Elías, R. Stuart, Ana I. Aldana, Verena Torres y Lucía Sarduy  
 Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, La Habana, Cuba  
 Correo electrónico: jgalindo@ica.co.cu

Los rumiantes producen metano en el rumen a partir de los productos finales de la fermentación de los carbohidratos contenidos en los alimentos, mediante la actividad de una comunidad de microorganismos del dominio de las Archeobacterias, proceso que reduce la eficiencia en la utilización de la energía alimentaria. Para estudiar el efecto de la inclusión de fuentes amiláceas en la población de bacterias metanogénicas y metano ruminal en dietas con caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) fermentada *in vitro*, se evaluaron cinco tratamientos, según diseño completamente aleatorizado en arreglo factorial 5 x 2 (cinco tratamientos, con dos horas de muestreo). Los tratamientos fueron: A) caña fermentada, B) dieta integral con 70 % de caña fermentada, C) dieta integral con 40 % de caña fermentada, D) caña fermentada con maíz (*Zea mays*) y E) caña fermentada con boniato (*Ipomoea batata*). Los muestreos se efectuaron antes de incubar (hora 0) y a las 24 h de fermentación. La inclusión de granos de maíz en la fermentación de la caña de azúcar y dieta integral redujeron la población de bacterias metanogénicas y la producción de metano. Las bacterias celulolíticas fueron 3.33, 3.21, 1.66, 1.78 y 3.14 10<sup>6</sup> ufc/mL, para A, B, C, D, y E, respectivamente. No hubo efecto de la fuente amilácea en el pH, NH<sub>3</sub> y concentración total de AGCC. La proporción molar de ácido acético fue 71.31; 64.39; 59.45; 59.46 y 63.52 % en los tratamientos A, B, C, D y E, respectivamente. Se destacó el efecto de la fuente amilácea en la determinación del patrón de fermentación. El aporte de sustratos glucogénicos totales favoreció a la dieta integral, con 40% de caña fermentada; caña fermentada con maíz y caña fermentada con boniato. Se concluye que la inclusión de fuentes amiláceas en dietas con caña de azúcar fermentada reduce la población de bacterias metanogénicas y el metano ruminal, así como la proporción molar de ácido acético y propicia mayor aporte en sustratos glucogénicos totales *in vitro*.

Palabras clave: rumen, metano, bacterias, caña de azúcar fermentada, almidón

La metanogénesis es uno de los procesos más importantes del ciclo del carbono en la naturaleza. Actualmente es objeto de numerosas y profundas investigaciones. El mecanismo exacto no está bien determinado, pero si está claro que es una ruta metabólica única, donde ocurre una reducción de grupos metilo a metano (Deppenmeier 2002).

La diferencia principal entre la producción de metano en el rumen y otros sistemas anaerobios es que los rumiantes degluten suficiente saliva y agua, de forma tal que el tiempo de retención de la digesta en el tracto gastro intestinal (TGI) es menor de un día. Este corto tiempo de retención no permite el desarrollo de organismos de crecimiento lento que consumen ácido: acetógenos productores de H<sub>2</sub> (oxidán sustratos como etanol, butirato o propionato y disponen de electrones por reducción de H<sup>+</sup> a H<sub>2</sub>) y metanógenos acetotróficos (metanógenos capaces de descarboxilar acetato a CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>). Por tanto, los ácidos grasos de cadena corta como el acético, propiónico y butírico no se utilizan como sustrato para la metanogénesis ruminal (Zinder 1992). Estos compuestos se absorben como nutrientes por parte del animal.

La conversión anaeróbica de materia orgánica a CH<sub>4</sub> en el rumen involucra una comunidad de microorganismos donde los metanógenos intervienen en el paso final. Primeramente, las bacterias, hongos y protozoos fermentan las proteínas, polisacáridos y lípidos para producir aminoácidos y azúcares, y fermentan estos últimos a ácidos grasos de cadena corta, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. El CH<sub>4</sub> se forma entonces por los metanógenos ruminales, los que usan el H<sub>2</sub> (80 %) y el formiato (18 %) como

sustratos (Bryant 1979 y Demeyer y Fievez 2000), aunque diferentes autores como Zinder (1993), Wolin *et al.* (1997) y Attwood y McSweeney (2008) afirman que los metanógenos reducen el CO<sub>2</sub> o el formiato y a través de una serie de reacciones reductivas producen metano.

Numerosas investigaciones encaminadas a estudiar el proceso de formación de metano en el rumen y los factores que intervienen, coinciden en que el nivel de alimentación, los tipos de alimentos y su digestibilidad influyen en la cantidad de metano que se produce (Gil 2004 y Beauchemin y McGinn 2005). Cuando el ganado se somete a un sistema intensivo de alimentación, produce menor cantidad de metano que si se encuentra en un sistema extensivo. Se encontrará además, menor cantidad de bacterias metanogénicas en el rumen de animales que se alimentan con concentrado (Demeyer y Fievez 2000). Las ovejas y bovinos que se alimentan con dietas ricas en concentrado contienen 10<sup>7</sup>-10<sup>8</sup> y 10<sup>8</sup>-10<sup>9</sup> células/g, respectivamente (Morvan *et al.* 1996). Sin embargo, en dietas basadas en gramíneas se observan 10<sup>9</sup>-10<sup>10</sup> células/g para ambas especies (Joblin 2004).

Se conoce que la caña de azúcar es una planta que proporciona grandes ventajas como alimento animal, debido a su gran producción de biomasa. La cantidad de azúcares que contiene puede llegar a 40 y 45 % de la MS. Teniendo en cuenta esta propiedad, Elías *et al.* (1990) diseñaron una tecnología de fermentación en estado sólido, a partir de la que obtuvieron un producto que denominaron Saccharina.

Investigaciones realizadas por Galindo *et al.* (1996) demostraron que la inclusión de este alimento fermentado en la dieta para vacas aumentó la población de bacterias celulolíticas, así como la actividad específica de sus enzimas, lo que incrementará la velocidad de fermentación de la FDN en el rumen y, por consiguiente, reducirá el tiempo de permanencia en el órgano, y la producción de metano.

Las fuentes que contienen almidones, entre ellas el maíz y el boniato, se caracterizan por producir en el rumen una rápida fermentación y patrones de fermentación propiónicos (Stuart 2008). Esto reduce el H<sub>2</sub> libre en el líquido de rumen, con el consiguiente efecto en la producción de metano (CO<sub>2</sub> + 4H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> + 2H<sub>2</sub>O).

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la inclusión de fuentes amiláceas en la población de bacterias metanogénicas y metano ruminal en dietas con caña de azúcar fermentada en condiciones *in vitro*.

### Materiales y Métodos

*Tratamientos experimentales.* Se evaluaron cinco tratamientos, según diseño completamente aleatorizado en arreglo factorial 5 x 2 (cinco tratamientos, dos horas de muestreos). Los tratamientos fueron: A) caña fermentada, B) dieta integral con 70 % de caña fermentada, C) dieta integral con 40 % de caña fermentada, D) caña fermentada con maíz y E) caña fermentada con boniato.

La caña se fermentó mediante la tecnología de Elías *et al.* (1990), a la temperatura de la habitación, partiendo de los tallos limpios y con la adición de urea y sales minerales.

La fermentación de la caña con maíz y boniato se efectuó mediante la misma tecnología, pero se empleó la relación caña: maíz (90:10) y caña boniato (80:20) (Rodríguez 2006).

Las dos dietas integrales con caña fermentada se muestran en la tabla 1.

La composición química de las dietas que se evaluaron se determinó mediante AOAC (1995) y se muestra en la tabla 2.

*Procedimiento experimental.* El experimento se condujo en condiciones *in vitro*. Se utilizó la técnica de cultivo sumergido con agitación mecánica a 39 °C (Galindo 1988).

Las unidades experimentales consistieron en botellas de cristal de 250 mL. En cada una de ellas se introdujo 1.5 g del alimento para evaluar y 150 mL de la solución Menke's (105 mL de tampón + 45 mL de líquido de rumen total, LRT).

El líquido de rumen se obtuvo a partir de dos vacas Holstein canuladas en rumen. Estas se encontraban alojadas en cubículos individuales y consumieron forraje verde de pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*) y caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), con libre acceso al agua. Se les extrajo líquido ruminal antes de recibir el alimento en horas de la mañana.

Este líquido de rumen (LR) se filtró por muselina para eliminar las partículas del alimento bajo gasificación constante de CO<sub>2</sub>. En tres ocasiones, las partículas sólidas se batieron durante 1 min., unidas a 30 mL de solución tampón, con intervalos de 1 min. entre cada una. El batido se filtró por muselina. Se desechó la fracción sólida y la líquida se unió con la que se obtuvo previamente. Así se logró la fracción de líquido de rumen total (LRT).

Los muestreos se efectuaron antes de incubar (hora 0) y 24 h después de iniciada la fermentación para las determinaciones de las poblaciones microbianas y a las 24 h para la producción de metano.

La metodología experimental que se utilizó para la recolección de los gases formados en el proceso

Tabla 1. Composición de las dietas integrales con caña fermentada, %

Fuentes	Dieta integral con 40% caña fermentada	Dieta integral con 70 % caña fermentada
Caña de azúcar fermentada	42	70
Harina de maíz	28	-
Harina de soya	20	20
Miel final de caña de azúcar	5	5
Mezcla de minerales y vitaminas <sup>1</sup>	5	5

<sup>1</sup> Contiene (g. kg<sup>-1</sup>): 500 Ca HPO<sub>4</sub>; 400 Na Cl; 20 Zn CO<sub>3</sub>; 27 Fe SO<sub>4</sub> 5 H<sub>2</sub> O; 23 Mn SO<sub>4</sub>; 10 Cu SO<sub>4</sub> 5 H<sub>2</sub> O; 0.1 Co SO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub> O; 0.1 K Cl y 19 maíz

Tabla 2. Composición química de las dietas

Tratamientos	MS, %	PB, %	Carbohidratos solubles g. mL <sup>-1</sup>	Energía, MJ/kg de MS
Caña fermentada (control)	90.97	13.20	0.20	16.02
Dieta integral con 70 % de caña fermentada	87.02	17.38	0.21	14.27
Dieta integral con 40 % de caña fermentada	88.26	16.71	0.15	15.56
Caña fermentada con maíz	90.36	14.81	0.27	17.85
Caña fermentada con boniato	90.78	13.76	0.22	15.18

fermentativo del rumen fue la Galindo *et al.* (2003). Para determinar la cantidad de metano en la mezcla de gases del rumen, se empleó un cromatógrafo de gases. Se utilizó el N<sub>2</sub> como gas portador. La temperatura del horno fue de 52 °C, con atenuación de 5 x 10<sup>4</sup>, en columna de silicagel. La temperatura del detector fue de 230 °C y el porcentaje de metano se obtuvo al comparar con una muestra patrón que contenía 100 % de CH<sub>4</sub>. Para el cálculo del volumen de metano en la mezcla de gases, se utilizó la ecuación:  $V_{CH_4} = V_{gas} \times \% CH_4 \times 100^{-1}$ . La concentración de metano se determinó mediante la ecuación general de los gases. La presión atmosférica fue de 0.99 atm y la temperatura de la habitación de 29 °C.

Las pérdidas de energía por concepto de metano se expresaron con respecto a la energía bruta de cada alimento. Esta se determinó en un calorímetro adiabático.

**Técnicas de cultivo y conteos de microorganismos.** Se utilizó la técnica de cultivo de Hungate (1950) en tubos roll y en condiciones de anaerobiosis estricta.

La siembra de bacterias viables totales y celulolíticas se efectuó en los medios de cultivo de Caldwell y Bryant (1966), modificado por Elías (1971) y Galindo (1988). Las bacterias metanogénicas se contaron por el mismo método, pero se utilizó una mezcla de hidrógeno y dióxido de carbono (60:40) en la fase gaseosa. El medio de cultivo fue descrito por Anderson y Horn (1987).

El pH se midió en pH- metro digital, marca WPA. El amoníaco se midió según Conway (1957) y los ácidos grasos de cadena corta totales e individuales por cromatografía gaseosa, según Cottyn y Boucqué (1969).

El balance estequiométrico de la fermentación ruminal se realizó a partir de la metodología de Stuart (2008). Se replicó seis veces en tiempo.

**Tratamiento estadístico a los conteos de microorganismos.** El tratamiento estadístico de los resultados experimentales se hizo de acuerdo con el diseño experimental que se utilizó, con el propósito de identificar interacción entre los tratamientos (dietas) y los tiempos de fermentación (horas de muestreo). En los casos necesarios, se utilizó la Dócima de Duncan (Duncan 1955) para P < 0.05. Los análisis estadísticos se realizaron con los paquetes estadísticos Info Stat (2002) y SPSS+ (Visauta 1998).

Los conteos de microorganismos se transformaron según Log N para garantizar las condiciones de normalidad en la curva de crecimiento. Para el análisis se aplicó la fórmula (K+N).10<sup>x</sup>, donde:

K - constante que representa el logaritmo de la dilución en la cual se inoculó el microorganismo

N - logaritmo del conteo de colonias determinado como ufc x mL<sup>-1</sup>, uft x mL<sup>-1</sup>, ó células x mL<sup>-1</sup>

10 - base de los logaritmos

X - dilución a la que se efectuó la inoculación

### Resultados

No se encontró interacción entre los factores en estudio. Se presentarán solamente los resultados del efecto de la dieta. La inclusión de harina de maíz en el proceso de fermentación de la caña de azúcar, así como la formulación de una dieta integral con 40 % de caña fermentada y 28 % de harina de maíz redujo (P < 0.05) la población de bacterias metanogénicas del rumen. La dieta integral con 70 % de caña fermentada y la caña fermentada propiciaron poblaciones similares a los referidos grupos microbianos, mientras que la fermentación de la caña con boniato tuvo valores intermedios (figura 1).

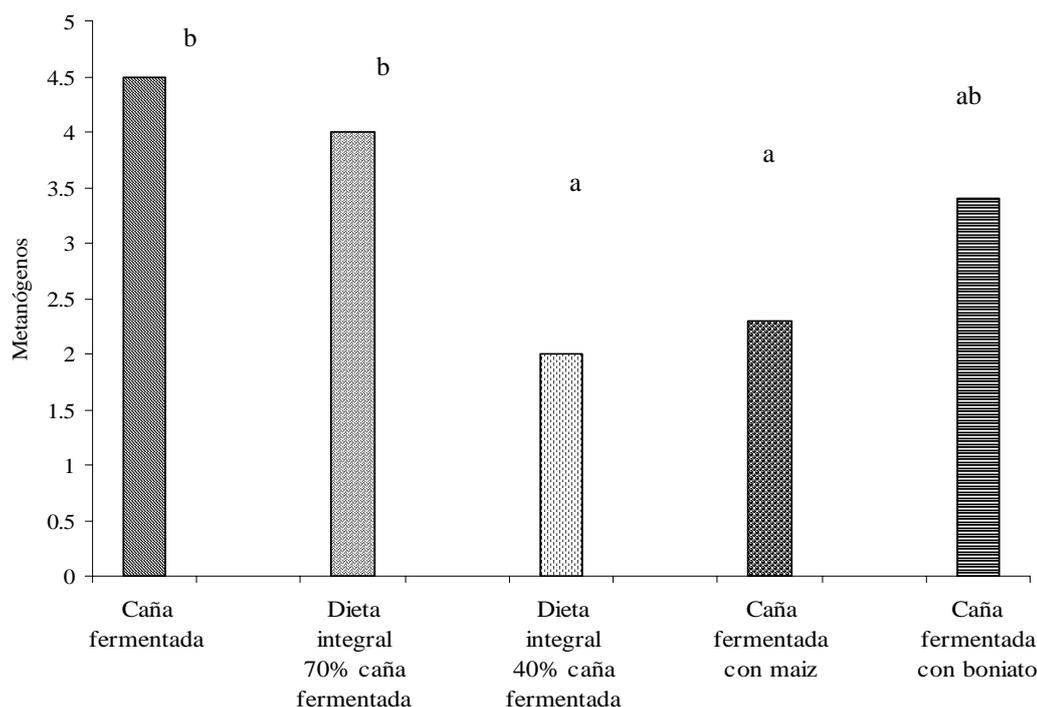


Figura 1. Efecto de la manipulación de la dieta en la población de bacterias metanogénicas del rumen (10<sup>7</sup> ufc. mL<sup>-1</sup>). EE ± 0.1

La población de bacterias viables totales del rumen fue superior cuando se utilizó la caña fermentada con maíz (tabla 3). Los tratamientos en los que se evaluó la caña fermentada y las dietas integrales, con 70 y 40 % de caña fermentada, no difirieron entre sí para este indicador, mientras que la inclusión de boniato en el proceso fermentativo de la caña de azúcar no difirió de los tratamientos extremos.

La inclusión de fuentes amiláceas en dietas de caña fermentada redujo la población de bacterias celulolíticas del rumen. No se encontraron efectos cuando se empleó una dieta integral con 70 % de caña fermentada y caña fermentada con boniato.

La inclusión de harina de maíz en la fermentación de la caña de azúcar y la reducción en la cantidad de caña fermentada en la dieta integral (dieta integral con 40% de caña fermentada) redujeron la producción de metano (g. kg<sup>-1</sup> MS). Cuando se incluyó boniato en el proceso

de fermentación de la caña, se obtuvieron valores intermedios (figura 2).

No se encontró efecto de las fuentes amiláceas en el pH del líquido ruminal, concentración de amoníaco y de ácidos grasos de cadena corta total (tabla 4).

En la tabla 5 se muestra la proporción molar de los diferentes AGCC en el rumen. Como se aprecia la caña fermentada produjo la mayor proporción molar ácido acético; las menores proporciones molares de este ácido se encontraron cuando se utilizó la dieta integral con 40% de caña fermentada y en la cual se fermentó la caña con maíz, mientras que la dieta integral con 70% de caña fermentada y la caña fermentada con boniato produjeron proporciones molares de ácido acético intermedias. La proporción molar de ácido propiónico no difirió entre tratamientos y el porcentaje molar de ácido butírico fue menor en la caña fermentada y en la caña fermentada con boniato.

Tabla 3. Efecto de la manipulación de la dieta en las poblaciones de bacterias viables totales y celulolíticas del rumen

Dietas	Bacterias totales, 10 <sup>9</sup> ufc/mL	Bacterias celulolíticas, 10 <sup>6</sup> ufc/mL
Caña fermentada	1.34 <sup>bc</sup> (3.82)	0.44 <sup>a</sup> (3.33)
Dieta integral 70% caña fermentada	1.37 <sup>bc</sup> (3.94)	0.38 <sup>a</sup> (3.21)
Dieta integral 40% caña fermentada	1.11 <sup>bc</sup> (3.03)	0.23 <sup>b</sup> (1.66)
Caña fermentada con maíz	1.77 <sup>a</sup> (5.87)	0.29 <sup>b</sup> (1.78)
Caña fermentada con boniato	1.51 <sup>ab</sup> (4.53)	0.35 <sup>a</sup> (3.14)
EE ± sig.	0.13 <sup>**</sup>	0.15 <sup>*</sup>

<sup>a, b, c</sup>, Medias con letras diferentes, difieren a P < 0.05 (Duncan 1955)

Datos transformados según Ln X, medias originales entre paréntesis

\* P < 0.05 \*\* P < 0.01

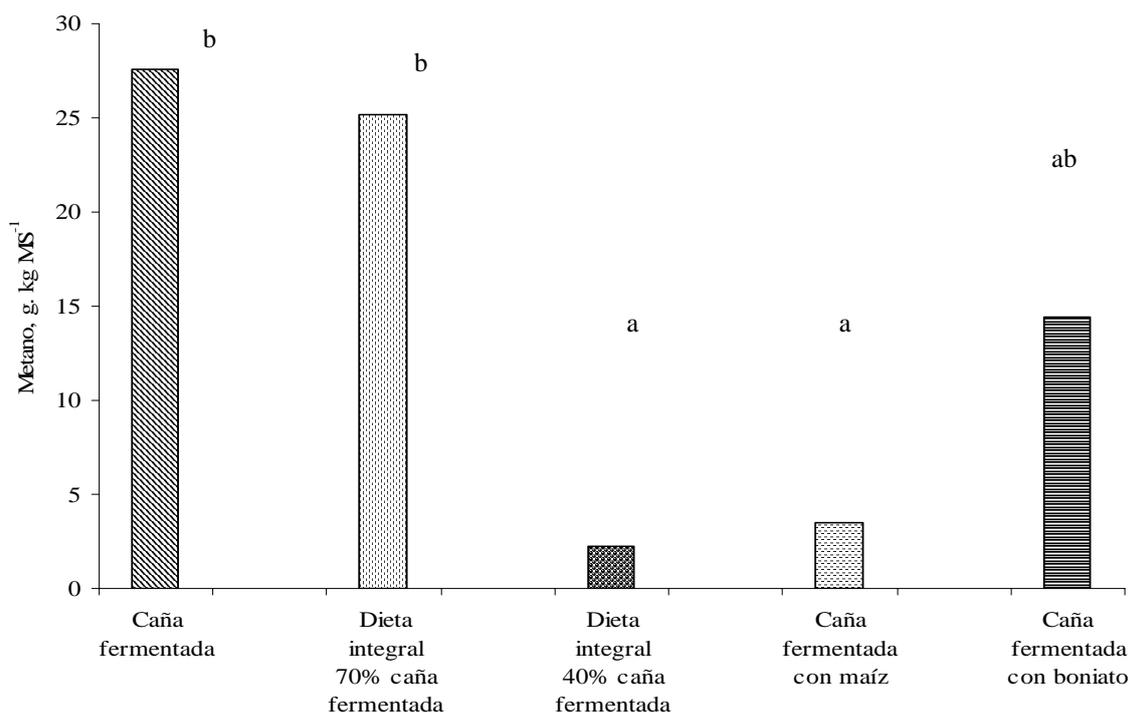


Figura 2. Efecto de la fuente amilácea en la producción de CH<sub>4</sub>, EE ± 0.20\*\*\*

Tabla 4. Efecto de la fuente amilácea en el pH y algunos productos finales de la fermentación ruminal *in vitro*.

Tratamientos	Indicador		
	pH	NH <sub>3</sub> , mmol/L <sup>-1</sup>	AGCC t, meq/ L <sup>-1</sup>
Caña fermentada	6.87	11.47	79.87
Dieta integral con 70 % caña fermentada	6.91	13.30	88.09
Dieta integral con 40 % caña fermentada	6.77	13.12	87.12
Caña fermentada con maíz	6.97	12.21	88.56
Caña fermentada con boniato	6.90	17.48	84.90
EE ± Sig	0.11	1.97	9.92

Tabla 5. Efecto de la fuente amilácea en la proporción molar de los diferentes AGCC *in vitro*.

Tratamientos	Proporción molar de los AGCC, %		
	Acético	Propiónico	Butírico
Caña fermentada	71.31 <sup>a</sup>	19.78	7.54 <sup>b</sup>
Dieta integral con 70 % caña fermentada	64.39 <sup>ab</sup>	20.51	12.00 <sup>a</sup>
Dieta integral con 40 % caña fermentada	59.45 <sup>b</sup>	24.77	12.35 <sup>a</sup>
Caña fermentada con maíz	59.46 <sup>b</sup>	21.22	13.35 <sup>a</sup>
Caña fermentada con boniato	63.52 <sup>ab</sup>	21.73	10.76 <sup>ab</sup>
EE ± Sig	2.34 <sup>**</sup>	2.23	1.32 <sup>*</sup>

<sup>a,b</sup> Medias con letras diferentes, difieren por columna a P < 0.05 (Duncan 1955),

<sup>\*\*</sup>P < 0.01    <sup>\*</sup>P < 0.05

Del análisis de la proporción molar de los diferentes AGCC en el rumen se dedujo que las relaciones acético:propiónico fueron de 3.61; 3.14; 2.40; 2.80 y 2.92 para las dietas de caña fermentada, dieta integral con 70 % de caña fermentada, dieta integral con 40 % de caña fermentada, caña fermentada con maíz y caña fermentada con boniato, respectivamente.

En la tabla 6 se muestra el balance estequiométrico de la fermentación ruminal. Todas las formas de manipulación de la caña fermentada propiciaron un mayor rendimiento energético (ATP. mol<sup>-1</sup> de glucosa fermentada) que la dieta con caña fermentada solamente (control) y se destacó el aporte de la variante caña fermentada con maíz. El aporte en sustratos glucogénicos a partir del ácido propiónico también fue mayor en todas las formas de manipulación de la dieta. Fue superior en la dieta integral, con 40 % de caña fermentada y 28 %

de maíz. A partir de aminoácidos glucogénicos, el mayor aporte correspondió a la caña fermentada con boniato. El balance del aporte total de sustratos glucogénicos totales favoreció a la dieta integral, con 40 % de caña fermentada; caña fermentada con maíz y caña fermentada con boniato.

### Discusión

En este estudio se demostró que la inclusión de fuentes amiláceas, tanto en el proceso de fermentación de la caña con maíz para producir el producto fermentado denominado Sacchamaíz (Elías 2009, datos no publicados), como en la formulación de dietas integrales con Saccharina (Elías *et al* 1990 y Galindo *et al.* 1996) y en el proceso de fermentación de la caña con boniato para producir Sacchaboniato (Rodríguez 2006) ocasiona modificaciones en el proceso fermentativo ruminal, lo

Tabla 6. Balance estequiométrico de la fermentación ruminal de dietas con caña de azúcar biofermentada

Estimado	Tratamientos				
	CF	DI 70 % CF	DI 40 % CF	CFM	CFB
Células microbianas sintetizadas, g	0.21	0.21	0.22	0.22	0.24
Células microbiana digestibles, g	0.17	0.17	0.18	0.18	0.19
Aporte proteína microbiana, g	0.11	0.10	0.11	0.11	0.12
Y <sub>ATP</sub> (g células microbianas x mol ATP <sup>-1</sup> )	13.26	13.29	13.06	13.12	13.22
ATP rendimiento (ATP x mol glucosa fermentada <sup>-1</sup> )	3.07	3.17	3.21	3.46	3.25
Aporte de sustratos glucogénicos					
del ácido propiónico, g	3.99	4.30	5.40	5.33	5.15
de aminoácidos glucogénicos, g	2.05	1.99	2.14	2.15	2.30
Total de sustratos glucogénicos, g	4.20	4.49	5.61	5.54	5.39

CF, caña fermentada; DI 70% CF, dieta integral con 70% caña fermentada; DI 40% CF, dieta integral con 40% caña fermentada; CFM, caña fermentada con maíz y CFB, caña fermentada con boniato.

que se manifiesta en reducciones en la concentración de metano en el rumen. Estos resultados coinciden con los informados por Gil (2004), McGinn *et al.* (2004) y Beauchemin y McGinn (2005), quienes informaron que cuando el ganado se somete a un sistema intensivo de alimentación se producen menores cantidades de metano que cuando se hallan en sistemas extensivos.

Las fuentes que se fermentan rápidamente en el rumen, como son los azúcares y almidones, producen menores cantidades de metano por unidad de sustrato que se digiere en relación con fuentes que aportan carbohidratos estructurales (McAllister *et al.* 1996 y Molano *et al.* 2008), lo que coincide con los resultados que se alcanzaron en este estudio. Se demuestra que la dieta, y principalmente el contenido de fibra, influyen en la densidad poblacional de metanógenos en el rumen. Por tanto, podrá encontrarse menor cantidad de bacterias metanogénicas en el rumen de animales alimentados con concentrado que en el rumen de los que se alimentan con forraje (Demeyer y Fievez 2000 y Joblin 2004).

Las fuentes amiláceas incrementan la población de bacterias amilolíticas en el rumen, que producen modificaciones en el proceso fermentativo ruminal y, consecuentemente, reducen la relación acético: propiónico, debido a una menor proporción molar de ácido acético, ya sea a expensas del ácido propiónico o del butírico. Todo parece indicar que en este estudio fue a partir de la interconversión del acético con el butírico. Esto reduce la cantidad de  $\text{CH}_4/\text{kg}$  de MS (McAllister *et al.* 1996). Contrariamente, las dietas ricas en fibra promueven una mayor población de bacterias celulolíticas. En este trabajo fue la dieta control, o sea, la caña fermentada, mayor proporción molar de ácido acético así como acético: propiónico (Lana *et al.* 1998).

Desde el punto de vista de las reacciones bioquímicas que se producen en el rumen de animales que consumen dietas que contienen fuentes amiláceas, se reconoce que las concentraciones de hidrógeno se incrementan producto de un acortamiento en el tiempo de retención. Así se incrementa la tasa de dilución ruminal o se sobrecarga el sistema con materia orgánica de fácil degradación.

Según Wolin y Miller (1988), los electrones del NADH generados en la fermentación se utilizan en el catabolismo del piruvato a productos reducidos, especialmente propionato más que acetato,  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2$  ().

Estos mismos autores señalan que en un sistema metanogénico que opera eficientemente, donde las presiones parciales de  $\text{H}_2$  se mantienen a muy bajos niveles, la mayoría de los carbohidratos se fermentan vía formación de acetato,  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2$ , sin mayores producciones de otros ácidos grasos. Un ejemplo de esto es la influencia de los metanógenos en la fermentación de la celulosa por *Ruminococcus albus*. Esta bacteria produce etanol, acetato,  $\text{H}_2$ ,  $\text{CO}_2$  y, en ocasiones, formiato en cultivo puro. Sin embargo, en el rumen al crecer junto a metanógenos que utilizan rápidamente el

$\text{H}_2$ , no se produce etanol. Este ejemplo ilustra la complejidad del ecosistema ruminal, y de manera muy particular, lo referente a la producción de metano.

Molano *et al.* (2008), entre otros autores, reconocen que para reducir la producción de metano en el rumen es necesario conocer las vías de su producción, así como los microorganismos y factores que intervienen en este proceso.

La falta de diferencia estadística en la concentración de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) y ácidos grasos de cadena corta (AGCC) del rumen en los diferentes tratamientos es un aspecto en el que se debe profundizar.

Con respecto al pH, es importante considerar que este depende de la producción de ácidos, la capacidad tampón del líquido ruminal y la eliminación de protones por absorción o flujo al tracto digestivo inferior (Calsamiglia *et al.* 2007). Al respecto se indica que la disociación ( $\text{pK}_a$ ) de los AGCC en el rumen es baja, en condiciones fisiológicas normales y que los diferentes ácidos grasos de cadena corta contribuyen de forma similar al pH ruminal. En sentido general, en esto influye la cantidad de saliva que se segrega hacia el rumen, la capacidad tampón intrínseca de los alimentos que ingieren los animales y la capacidad tampón del amoníaco. Sin embargo, debe considerarse que los experimentos que conformaron este estudio se condujeron en condiciones *in vitro*, lo que reduce la posibilidad de reciclaje de la urea y el tránsito hacia las partes bajas del tracto gastro intestinal (TGI).

Los resultados que se obtuvieron en este trabajo permiten concluir que la inclusión de fuentes amiláceas en dietas con caña de azúcar fermentada reduce la población de bacterias metanogénicas y el metano ruminal, así como la proporción molar de ácido acético. Además, propicia mayor aporte en sustratos glucogénicos totales *in vitro*.

### Agradecimientos

Se agradece la colaboración de la Organización Internacional de Energía Atómica (OIEA) para el financiamiento de esta investigación, en el marco del Proyecto No. 12667 «Utilización de un suplemento activador de la fermentación microbiana ruminal en el control de la metanogénesis ruminal».

### Referencias

- AOAC. 1995. Official methods of analysis (15<sup>th</sup> Ed.) Assoc. Anal. Chem. Artlington, V.A.
- Anderson, M.A. & Horn, G.M. 1987. Effect of Lasalocic in wheight gain, ruminal fermentation and forage intake of stocker cattle grazing wintwer pasture. J. Anim. Sci. 65:865
- Attwood, G. & McSweeney, C. 2008. Methanogen genomics to discover targets for methane mitigation technologies and options for alternative  $\text{H}_2$  utilisation in the rumen. Australian J. Exp. Agric. 48:28
- Beauchemin, K.A. & McGinn, S.M. 2005. Methane emissions from feedlot cattle fed barley or corn diets. J. Anim. Sci. 83:653

- Bryant, M.P. 1979. Microbial methane production: Theoretical aspect. *J. Anim. Sci.* 48:193
- Caldwell, D. R. & Bryant, M.P. 1966. Medium without fluid for non selective enumeration and isolation of rumen bacteria. *Appl. Microbiol.* 14:794
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Casillejos, L. & Ferrt, A. 2007. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 90:2580
- Conway, E.J. 1957. Microdiffusion analysis and volumetric error. 4<sup>th</sup>. Ed. Crosby Lockwood Sons, Ltd. London
- Cottyn, B.G. & Bouquet, V. 1969. Rapid method for the gas chromatographic determination of volatile fatty acids in rumen fluid. *J. Agric. Fed. Chem.* 16:105
- Demeyer, D.L. & Fievez, V. 2000. Ruminants et environnement: la méthanogénèse. *Ann. Zootech.* 49:95
- Deppenmeier, U. 2002. The unique biochemistry of methanogenesis. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology.* 71:223
- Duncan, D.E. 1955. Multiple range and multiple F. test. *Biometrics.* 11:1
- Elías, A. 1971. The rumen bacteria of animals fed on a high-molasses urea diet. Thesis PhD. Aberdeen
- Elías, A., Lezcano, O., Lezcano, P., Cordero, J & Quintana, L. 1990. A review on the development of a protein sugar cane enrichment technology trough solid state fermentation (Saccharina). *Cuban J. Agric. Sci.* 24:1
- Galindo, J. 1988. Efecto de la zeolita en la población de bacterias celulolíticas y su actividad en vacas que consumen ensilaje Tesis de Dr. Instituto de Ciencia Animal, La Habana.
- Galindo, J., Elías, A., Delgado D., Piedra, R., Riverí, Z., Gutiérrez, O. & Coto, G. 1996. Effect of the Saccharina level in the feed on the ruminal microbial population and its activity in dairy cows. *Cuban J. Agric. Sci.* 30:57
- Galindo, J., Elías, A., Palenzuela, M.C. & A.I. Aldana. 2003. Efecto del monensín en la producción de metano *in vitro* en tres sistemas ecológicos ruminales. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 37:183
- Gil, S.B. 2004. Sistema de producción de carne bovina: Engorde intensivo (feedlot). Elementos que intervienen y posibles impactos en el medio ambiente. En: <http://www.ingenieroambiental.com/new3informes/feedlot.htm> . Consultado: 4 de agosto de 2004
- Hungate, R. G. 1950. The anaerobic, mesophilic cellulolytic bacteria. *Bacterial Ref.* Vol. 14 (1).
- Joblin, K.N. 2004. Methanogenic Archaea. En: I Planning Meeting of Project Contract Research and Training Workshop «Development and Use of Rumen Molecular Techniques for Predicting and Enhancing Productivity». Brisbane, Australia
- Lana, R.P., Russell, J.B. & van Amburgh, M.E. 1998. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. *J. Anim. Sci.* 76: 2196
- McAllister, T.A., Okine, E.K., Mathison, G.W. & Cheng, K.J. 1996. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Can. J. Anim. Sci.* 76:23
- McGinn, S.M., Beauchemin, K.A., Coates, T. & Colombatto, D. 2004. Methane emissions from beef cattle: Effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. *J. Anim. Sci.* 82:3346
- Molano, G., Knight, T. M. & Clark, H. 2008. Fumaric acid supplements have no effect on methane emissions per unit feed intake in wether lambs. *Australian J. Exp. Agric.* 48:165
- Morvan, B., Bonnemoy, F., Fonty, G. & Gouet, P. 1996. Quantitative determination of H<sub>2</sub>-utilizing acetogenic and sulfate-reducing bacteria and methanogenic archaea from digestive tract of different mammals. *Curr. Microbiol.* 32:129
- Rodríguez, Z. 2006. Uso del boniato (*Ipomoea batata* lam) en la tecnología de fermentación en estado sólido de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). Tesis Dr. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba
- Stuart, J.R. 2008. Balance estequiométrico de la fermentación ruminal. En: Aspectos bioquímicos y fisiológicos del ecosistema gastro-intestinal en rumiantes. Curso Opcional de la Maestría Producción Animal Tropical. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba
- Visauta, B. 1998. Análisis estadístico con SPSS para Window. Estadística multivariada. Vol II. Mc Graw-Hill/ Interamericana de España, S.A.V. p. 358
- Wolin, M.P. & Millar, T.L. 1988. Microbe-microbe interaction. En: The rumen microbial ecosystem. Hobson, P.N. Ed. Elsevier Applied Science, London and New York, p. 343
- Wolin M.J., Miller T.L. & Stewart, C.S. 1997. Microbe- microbe interactions. En: The rumen microbial ecosystem. Eds. P.N. Hobson and Stewart. Blackie Academic and Professional. London. p. 467
- Zinder, S.H. 1992. Methanogenesis. En: Encyclopedia of Microbiology, Lederberg, J. Ed. Academic Press, San Diego. Vol 3. p. 81
- Zinder, S.H. 1993. Physiological ecology of methanogens. En: Methanogenesis. Eds. J.G. Ferry. p. 128

**Recibido: 16 de septiembre de 2008**