UNIVERSIDAD DEL MAR

CAMPUS PUERTO ESCONDIDO

EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA INCLUSIÓN DE ACEITE DE PESCADO Y *Leucaena leucocephala* SOBRE LA PRODUCCIÓN DE METANO EN UNA DIETA A BASE DE FORRAJE

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE LICENCIADO EN ZOOTECNIA

PRESENTA

ALDO ABRAHAM SALAZAR MENDOZA

DIRECTOR DE TESIS

DR. SERAFÍN JACOBO LÓPEZ GARRIDO

PUERTO ESCONDIDO, OAX., ABRIL DE 2013

UNIVERSIDAD DEL MAR
CAMPUS PUERTO ESCONDIDO

Puerto Escondido, Oax., Abril 2013

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

Después de realizar una revisión detallada de la tesis **"EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA INCLUSIÓN DE ACEITE DE PESCADO Y *Leucaena leucocephala* SOBRE LA PRODUCCIÓN DE METANO EN UNA DIETA A BASE DE FORRAJE"**, presentada por el pasante de la **LICENCIATURA EN ZOOTECNIA, ALDO ABRAHAM SALAZAR MENDOZA**, se considera que cumple con los requisitos y calidad para ser defendida en el examen profesional.

COMISIÓN REVISORA

Dr. Serafín Jacobo López Garrido
Universidad del Mar
Director de Tesis

Dr. José Luis Arcos García
Universidad del Mar
Revisor

M. en C. Julieta Karina Cruz Vázquez
Universidad del Mar
Revisor

Ph. D. Mario Antonio Cobos Peralta
Colegio de Postgraduados
Revisor

M. en C. Eliud Flores Morales
Universidad del Mar
Revisor

DEDICATORIA

A mis padres, Alfonso Armando Salazar Estrada y Antonia Ever Mendoza Cirigo, que a lo largo de mi vida me han guiado otorgándome lo más preciado del mundo su amor incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Al Doctor Serafín Jacobo López Garrido por guiarme durante la realización de la presente investigación, y principalmente por su amistad y apoyo incondicional.

Al Doctor Mario Antonio Cobos Peralta, por su apoyo en el análisis de las muestras de biogás total, y metano; así como por sus consejos en la realización de la presente tesis.

Al Doctor José Luis Arcos García por su apoyo y consejos en la realización de la presente tesis.

A la Maestra Julieta Karina Cruz Vázquez, por su amistad, consejos y apoyo en la realización de la presente tesis.

Al Maestro Eliud Flores Morales, por sus consejos y apoyo en la realización de la presente tesis.

A mis Hermanos Alfonso, Nadia, Jasmin, Rebeca y Mercedes, por ser mi ejemplo a seguir, por su cariño y apoyo en todo momento,

A Fátima Rocha Ocampo, por su amor, apoyo y la oportunidad de vivir estos grandes momentos a su lado.

A Abel Cristóbal Montaño Trujillo y Verónica Díaz Venegas por su amistad, cariño y apoyo incondicional a lo largo de toda la carrera, y sobre todo por ser parte especial en mi vida.

A todos los profesores quienes intervinieron en mi formación académica y profesional.

A mis amigos y compañeros Ulises Cortés Gómez, Diego Arturo Ramos Ramos, Ulises Hernández Díaz y Sergio Ayala Díaz por los miles de momentos vividos a lo largo de la carrera por sus consejos y apoyo en momentos difíciles.

A la Secretaria de Educación Pública (SEP), mediante el programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP), por el apoyo recibido a través del proyecto PROMEP PTC – 119 2010; titulado: **“Efecto de los parásitos gastroentéricos en la actividad ruminal de los bovinos en el trópico”**, registrado en el Instituto de Genética de la UMAR con clave programática **CUP 2IG1004**. De donde se derivó una segunda línea de investigación titulada: **“Evaluación *in vitro* de la inclusión de aceite de pescado y *Leucaena leucocephala* sobre la producción de metano en una dieta a base de forraje”.**

CONTENIDO

RESUMEN……. x

ABSTRACT …….. xi

INTRODUCCIÓN ……. 1

ANTECEDENTES……. 3

Ambiente ruminal y metanogénesis…….. 3

Bacterias metanogénicas ruminales……. 4

Protozoarios en el rumen……. 6

Estrategias para la reducción de la metanogénesis ruminal……. 6

Estrategias de manejo y alimentación…….. 7

Uso de alimentos concentrados……. 8

Empleo de arbustivas forrajeras ……. 10

Adición de lípidos……. 12

Biohidrogenación de las grasas……... 13

Adición de aceite de pescado…….. 14

Pasto King grass CT-115…….. 15

Digestibilidad *in vitro* de la materia seca…..……. 16

Metodologías para medir la producción de metano……. 17

Leyes de los gases…….. 20

Cromatografía de gases…….. 21

OBJETIVOS…….. 22

Objetivo general…….. 22

Objetivos específicos…….. 22

HIPÓTESIS …….. 23

MATERIALES Y MÉTODOS…….. 24

Localización……... 24

Tratamientos experimentales…… 24

Montaje del sistema de producción de gas *in vitro*…… 24

Inóculo…… 27

Acoplamiento de biodigestores y trampas de gas…….. 27

Variables a evaluar…….. 28

Producción de CO_2 y CH_4…… 28

Concentración de ácidos grasos volátiles…… 29

Concentración de bacterias totales……... 29

Concentración de protozoarios…….. 30

Concentración de bacterias celulolíticas…….. 30

pH del medio de cultivo a 72 h de incubación…… 30

Digestibilidad *in vitro* de la materia seca…..... 31

Análisis de los datos…… 32

RESULTADOS Y DISCUSIÓN…….. 33

Desplazamiento de gas metano en las trampas de NaOH…… 33

Desplazamiento de biogás total (CO_2 y CH_4) en las trampas de solución salina ácida…… 35

Digestibilidad de la MS y pH……... 36

Concentración de bacterias totales……... 41

Concentración de bacterias celulolíticas…….. 43

Concentración de protozoarios…….. 45

Concentración de AGV en los tratamientos…… 47

Producción de CO_2 y CH_4 en los tratamientos…… 51

CONCLUSIONES…… 56

LITERATURA CITADA……... 57

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos experimentales mas medio de cultivo para microorganismos ruminales a base de glucosa celobiosa, almidon y fluído ruminal (GCAFR) (Cuadro 2) descrito por (Cobos & Yokoyama 1995)…….…….. 25

Cuadro 2. Componentes del medio de cultivo glucosa, celobiosa, almidón y fluido ruminal (GCA-FR)……. 26

Cuadro 3. Componentes del medio de cultivo para bacterias celulolíticas……. 31

Cuadro 4. Desplazamiento (ml) acumulado de gas metano en trampas de NaOH……. 33

Cuadro 5. Desplazamiento (ml) acumulado de biogás total en trampas de solución ácida ……..…….…… 35

Cuadro 6. Digestibilidad *in vitro* de la materia seca *y pH*…….. 37

Cuadro 7. Concentración de bacterias totales a diferentes tiempos (10^9 mL^{-1}). 41

Cuadro 8. Concentración de bacterias celulolíticas (10^6 ml^{-1})…….. 43

Cuadro 9. Concentración de protozoarios a diferentes tiempos (10^6 ml^{-1})……. 45

Cuadro 10. Concentración AGV (10^6 ml^{-1})…….. 48

Cuadro 11. Producción de CO_2 y CH_4…….. 51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ruta metabólica de la metanogénesis (Madigan *et al*. 2004)……. 5

Figura 2. Sistema de producción de gas *in vitro*…….. 28

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar mediante la técnica de producción de gas *in vitro* el efecto de la adición de aceite de pescado, *Leucaena leucocephala* y alimento concentrado en la fermentación *in vitro* de una dieta con alto contenido de forraje (King grass CT-115), mediante la técnica de producción de gas *in vitro*; las variables evaluadas fueron la producción de CH_4, CO_2, pH, AGV, bacterias totales, bacterias celulolíticas, protozoarios y DIVMS. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado, con cinco tratamientos, y 3 repeticiones por tratamiento; los tratamientos fueron, T1= testigo (King grass CT-115); T2 = T1+ 0.5% de aceite de pescado; T3 = T1+ 5% de aceite de pescado; T4 = 70% pasto King grass CT-115 + 30% *L. leucocephala*; T5 = 60% pasto King grass CT-115 + 40% concentrado. La mayor producción de CH_4 ($P \leq 0.05$), se presentó en el T2, acompañado de una mayor concentración de AGV ($P \leq 0.05$), aumento la relación de acetato:propionato ($P \leq 0.05$). No se observó efecto ($P \geq 0.05$) sobre la población de bacterias celulolíticas y de protozoarios. Entre los tratamientos T1, T3 y T4 no se observaron diferencias ($P \geq 0.05$) en la producción de CH_4, en el número de bacterias celulolíticas, protozoarios, ni en las concentraciones de AGV totales y la relación acetato:propionato. La menor producción de CH_4 ($P \leq 0.05$), se observó en el T5, aumento la concentración de propionato, disminuyó la relación acetato:propionato. No se observaron diferencias en la DIVMS y bacterias celulolíticas, pero disminuyó la población de bacterias totales y el pH, en contraste, aumento la población de protozoarios. Se concluye que la incorporación de 30% de *L. leucocephala* no disminuyó ($P \geq 0.05$) la producción de CH_4. La adición de 5% de aceite de pescado no afecto ($P \geq 0.05$) las poblaciones de bacterias totales y celulolíticas; se observó una ligera disminución en la producción de metano. La incorporación de alimento concentrado en un 40% disminuyó la producción de metano en la fermentación *in vitro* de pastoKing grass CT-115.

Palabras clave: King Grass, *Leucaena leucocephala*, aceite de pescado, metano.

ABSTRACT

The objective of this investigation was to evaluate the effect of the addition of fish oil, *Leucaena leucocephala* and concentrated feeding in vitro fermentation of a diet high in forage (King Grass CT-115), the variables evaluated were the production of CH4, CO2, pH, VFA, total bacteria, cellulolytic bacteria, protozoa and IVDMD. It was utilized a completely randomized design, with five treatments, with three replicates per treatment, the treatments were, T1 = control (King Grass CT-115), T2 = T1 +0.5% fish oil; T3 = T1 + 5% fish oil, T4 = 70% forage King Grass ct-115 + 30% *L. leucocephala*, T5 = 60% forage King Grass CT-115 + 40% concentrate. The higher production of CH_4 ($P \leq 0.05$), is present in T2, accompanied by increased VFA concentration ($P \leq 0.05$), increased acetate to propionate ratio, ($P \leq 0.05$), no effect ($P \geq 0.05$) on the population of cellulolytic bacteria and protozoa. No differences ($P \geq 0.05$) in the production of CH4 in the number of cellulolytic bacteria, protozoa, or total VFA concentration and acetate to propionate ratio, between treatments T1, T3 and T4. The lower CH_4 production ($P \leq 0.05$), was observed in the T5, no differences were observed in IVDMD, cellulolytic bacteria, decreased total bacterial population and pH, increasing the population of protozoa. It is concluded that the incorporation of 30% of L. leucocephala not decreased ($P \geq 0.05$) CH4 production. The addition of 5% fish oil did not affect ($P \geq 0.05$) populations of total and cellulolytic bacteria, there was a slight decrease in the production of methane. The addition of concentrate fell by 40% in methane production *in vitro* fermentation of King Grass CT-115.

Keywords: King Grass CT-115, *Leucaena leucocephala*, fish oil, methane.