



UNIVERSIDAD DEL MAR

CAMPUS PUERTO ESCONDIDO

**DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y FERMENTACIÓN
RUMINAL *IN VITRO* DE PASTOS TROPICALES Y MEJORADOS
EN LA COSTA DE OAXACA.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
ZOOTECNIA

PRESENTA

PALMIRA DIAZ ALTAMIRANO

DIRECTOR DE TESIS

DR. SERAFÍN JACOBO LÓPEZ GARRIDO

PUERTO ESCONDIDO, OAXACA, MEXICO. FEBRERO, 2020

DEDICATORIA

La presente tesis la dedico con cariño y amor a mis padres Carlos Díaz Pantoja y Emilia Altamirano Díaz que me dieron la vida y que a pesar de todos los momentos difíciles que hemos pasado en estos últimos años, han estado apoyándome y brindándome su amor. Por su infinita paciencia y confianza para que pudiera culminar este proyecto.

A mis hermanos Clarisa y Ricardo quienes no han dejado de motivarme.

A mis sobrinas Natalia Aitana y Grace Itzayana por quienes estoy aquí.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de tesis fue realizado en la Universidad del Mar Campus Puerto Escondido, es el producto del esfuerzo directa e indirectamente de distintas personas opinando, corrigiendo, teniéndome paciencia, dando ánimo, acompañándome en los momentos de crisis y en momentos de felicidad. Este tipo de trabajo me ha permitido valorar la experiencia de muchas personas a las cuales les quiero agradecer en este apartado.

En primer lugar mi director de tesis, Dr. Serafín Jacobo López Garrido, mi más amplio agradecimiento por haberme tenido la confianza y por su paciencia ante mi inconsistencia, por su valiosa dirección y apoyo para seguir este proyecto de tesis y llegar a la conclusión del mismo.

Al Doctor Jaime Arroyo Ledesma por su apoyo a lo largo de toda la licenciatura, sus consejos, confianza y su apoyo en la revisión de dicha tesis.

Al Doctor Narciso Ysac Ávila Serrano por su apoyo y consejos durante la revisión de esta tesis.

A la Doctora Mónica Marcela Galicia Jiménez por su apoyo para la revisión del trabajo de tesis.

Especial reconocimiento por el interés mostrado por mi trabajo y las sugerencias recibidas por el Maestro y amigo Eliud Flores Morales, por la orientación, el seguimiento, la supervisión, su apoyo para la realización y revisión de dicha tesis.

A todos los profesores de la Licenciatura en Zootecnia quienes fueron parte de mi formación académica.

A mis amigos Eduardo y Gerardo quienes me animaron y me ayudaron en parte del proceso de este proyecto, quienes han estado presentes y que no han dejado de apoyarme y alentarme.

A todos ellos, muchas gracias.

CONTENIDO

RESUMEN	VIII
ABSTRACT	X
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Características de la alimentación de los rumiantes en trópico.....	4
2.2 Características de los forrajes en el trópico	4
2.3 Alternativas para la alimentación de rumiantes.....	5
2.3.1 Tipos de forrajes en el trópico.....	6
2.3.2 Mejoramiento de pastos	8
2.4 Métodos para determinar la digestibilidad de los pastos.....	14
2.5 Alternativas para la disminución de la producción de metano.....	15
2.5.1 Calidad del forraje.....	16
2.5.2 Métodos para medir la metanogénesis.....	16
3. OBJETIVOS	18
3.1 Objetivo general	18
3.2 Objetivos específicos	18
4. HIPÓTESIS	19
5. MATERIALES Y MÉTODOS	20
5.1 Localización geográfica.....	20
5.2 Variedades experimentales.....	20
5.3 Obtención de las gramíneas	21
5.3.1 Pastos tropicales	21
5.3.2 Pastos mejorados	22

5.4	Análisis químico de los pastos	22
5.5	Obtención del inóculo ruminal	23
5.6	Preparación de los medios de cultivo con sustrato	23
5.7	Inoculación	25
5.8	Acoplamiento de biodigestores y trampas de gas	25
5.9	Variables evaluadas	26
5.9.1	Concentración de AGV	26
5.9.2	Producción de CH ₄ y CO ₂	26
5.9.3	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca.....	27
5.9.4	Concentración de Bacterias Totales	28
5.9.5	Concentración de protozoarios ruminales	28
5.9.6	Concentración de Bacterias Celulolíticas	29
6.	ANÁLISIS DE LOS DATOS.....	30
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
8.	CONCLUSIONES	45
9.	LITERATURA CITADA.....	46

ÍNDICE DE CUADROS

<i>Cuadro 1 Datos comparativos del análisis químico de los pastos tropicales e híbridos</i>	<i>13</i>
<i>Cuadro 2. Variedades experimentales.....</i>	<i>20</i>
<i>Cuadro 3. Componentes del medio de cultivo para bacterias totales</i>	<i>24</i>
<i>Cuadro 4. Componentes del medio de cultivo para bacterias celulolíticas.....</i>	<i>30</i>
<i>Cuadro 5. Porcentajes de Materia Seca, Proteína, FDN y FDA de los pastos tropicales evaluados.....</i>	<i>32</i>
<i>Cuadro 6. Producción de biogás en trampas de solución salina (ml g⁻¹ MS) a las 6, 12, 24, 48,72 horas mediante fermentación in vitro.....</i>	<i>34</i>
<i>Cuadro 7. Población de bacterias totales (10⁹ mL⁻¹) a diferentes tiempos durante la fermentación ruminal in vitro.</i>	<i>36</i>
<i>Cuadro 8. Población de Bacterias ruminales totales (10¹⁰ mL⁻¹) acumulada durante la fermentación in vitro.</i>	<i>37</i>
<i>Cuadro 9. Población de Protozoarios (10⁴ mL⁻¹) a diferentes tiempos a través de incubación durante la fermentación in vitro.</i>	<i>38</i>
<i>Cuadro 10. Población de acumulada de Protozoarios (10⁵ mL⁻¹) a las 72 horas de la fermentación ruminal in vitro.</i>	<i>38</i>
<i>Cuadro 11. Concentración de bacterias Celulolíticas (10⁶mL⁻¹) a las 72 horas de incubación durante la fermentación ruminal in vitro.....</i>	<i>39</i>
<i>Cuadro 12. Digestibilidad in vitro (%) de la materia seca (DIVMS) y valores de pH a las 72 horas de incubación durante la fermentación ruminal in vitro.</i>	<i>40</i>
<i>Cuadro 13. Concentración de AGVS en mMol L⁻¹ y en porcentaje a las 72 horas de incubación durante la fermentación ruminal in vitro.....</i>	<i>42</i>
<i>Cuadro 14. Producción de metano y dióxido de carbono (%) a las 72 horas de incubación durante la fermentación ruminal in vitro.....</i>	<i>44</i>

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1 Obtención de las muestras de gramíneas</i>	<i>22</i>
<i>Figura 2 Preparación se medios de cultivo con sustrato</i>	<i>24</i>
<i>Figura 3 Acoplamiento de biodigestores y trampas de gas.....</i>	<i>25</i>
<i>Figura 4 Concentración de AGV.....</i>	<i>26</i>
<i>Figura 5 Cromatografía de gases para determinar el porcentaje de CH₄ y CO₂.....</i>	<i>27</i>
<i>Figura 6 Filtración de los biodigestores y secado de la muestra</i>	<i>27</i>

RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar la composición química, la fermentación ruminal y la producción de metano *in vitro* de los pastos tropicales que incluyen Estrella Africana (*Cynodon nlemfuensis*), Llanero (*Andropogon gayanus*), Taiwán morado (*Pennisetum purpureum* cv. Taiwan), Maralfalfa (*Pennisetum purpureum* cv. Maralfalfa), Guinea (*Panicum máximum* cv. Guinea), así como los pastos híbridos Cayman (*Urochloa* Híbrido CIAT BR02/1752 cv. Cayman) y Cobra (*Urochloa* Híbrido CIAT BR02/1794 cv. Cobra) de la costa del estado de Oaxaca. Se utilizó 0.5 g de MS de los pastos, a cada vial se le agregó 45 ml de medio de cultivo para microorganismos anaerobios, fueron depositados en viales de vidrio de 120ml. Los viales fueron burbujeados con CO₂, se sellaron herméticamente y se esterilizaron. Posteriormente se inocularon con 5 ml de fluido ruminal de bovino, y se incubaron a 39°C durante 72 h. A las 6, 12, 24, 48 y 72 h se determinó la producción de biogás y la población de microorganismos. La concentración de AGV, pH y degradación de la materia seca *in vitro* (DIVMS) se determinó después de las 72h. A las 24, 48 y 72 horas se estimaron las emisiones de CH₄ y CO₂. Las variables se evaluaron mediante un diseño completamente aleatorizado utilizando siete tratamientos con cinco repeticiones. Los resultados indicaron que los pastos con más alto ($P<0.5$) contenido de Proteína cruda fueron el Guinea Cobra, Estrella y Cayman. Los pastos con menor contenido de FDN ($P<0.5$) fueron Taiwán morado, Cayman y Cobra. A las 72 h de fermentación la menor producción ($P<0.05$) de biogás se presentó en el pasto Cobra. La mayor población ($P<0.05$) acumulada de bacterias ruminales totales la presentó el pasto Llanero y el pasto Cobra. La población de bacterias celulolíticas a las 72h de fermentación ruminal *in vitro* fue mayor ($P<0.05$) en el pasto Maralfalfa, Taiwán morado y Cobra. La DIVMS a las 72h de incubación fue mayor ($P<0.05$) en el pasto Maralfalfa con respecto al pasto Estrella. En la concentración de ácidos grasos volátiles a las 72h de la fermentación ruminal *in vitro* se obtuvieron diferencias entre los distintos tratamientos.

El análisis de los pastos permitió obtener información específica sobre el proceso de degradación en el rumen, la producción de microorganismos ruminales, concentración de ácidos grasos volátiles. El volumen de CH₄ producido en los pastos Maralfalfa, Taiwán morado, cobra y Caimán fue menor, además tuvieron mayor degradación y menor contenido de paredes celulares.

ABSTRACT

The present study was conducted with the objective of determining the chemical composition, ruminal fermentation and in vitro methane production of tropical grass that include African Star (*Cynodon nlemfuensis*), Llanero (*Andropogon gayanus*), Purple Taiwan (*Pennisetum purpureum* cv. Taiwan), Maralfalfa (*Pennisetum purpureum* cv. Maralfalfa), Guinea (*Panicum maximum* cv. Guinea), as well as the hybrid grass Cayman (*Urochloa* Hybrid CIAT BR02 / 1752 cv. Cayman) and Cobra (*Urochloa* Hybrid CIAT BR02 / 1794 cv. Cobra) from the coast of the state of Oaxaca. From the grass 0.5 g DM of the pastures were used, 45 ml of culture medium for anaerobic microorganisms was added to each vial, deposited in 120 ml glass vials. The vials were bubbled with CO₂, sealed tightly and sterilized. They were subsequently inoculated with 5 ml of bovine ruminal fluid and incubated at 39 ° C for 72 h. At 6, 12, 24, 48 and 72 h the biogas production and the population of microorganisms were determined. The concentration of AGV, pH and degradation of dry matter in vitro (DIVMS) was determined after 72 h. At 24, 48 and 72 hours the emissions of CH₄ and CO₂ were estimated. The variables were evaluated using a completely randomized design using seven treatments with five repetitions. The results indicated that the grass with the highest ($P < 0.5$) crude Protein content were Guinea Cobra, Estrella and Cayman. The grass with the lowest FDN content ($P < 0.5$) were purple Taiwan, Cayman and Cobra. The lowest production ($P < 0.05$) of biogas occurred in Cobra grass at 72 h of fermentation. The largest population ($P < 0.05$) accumulated of total ruminal bacteria was presented by Llanero grass and Cobra grass. The population of cellulolytic bacteria at 72h of in vitro ruminal fermentation was higher ($P < 0.05$) in the Maralfalfa, purple Taiwan and Cobra grass. The DIVMS at 72h of incubation was higher ($P < 0.05$) in the Maralfalfa grass compared to the Estrella grass. In the concentration of volatile fatty acids at 72h of the in vitro ruminal fermentation differences were obtained between the different treatments.

The analysis of the pastures allowed to obtain specific information on the process of degradation in the rumen, the production of ruminal microorganisms, and concentration of volatile fatty acids. The volume of CH₄ produced in the Maralfalfa,

purple Taiwan, cobra and Cayman pastures was smaller, also had greater degradation and lower cell wall content.