



FERMENTACIÓN RUMINAL, DIGESTIBILIDAD Y PRODUCCIÓN DE METANO EN OVINOS ALIMENTADOS CON CUATRO NIVELES DE RASTROJO DE MAÍZ

[RUMINAL FERMENTATION, DIGESTIBILITY AND METHANE PRODUCTION IN SHEEP FED WITH FOUR LEVELS OF CORN STOVER]

Jorge A. Bonilla-Cárdenas¹, Clemente Lemus-Flores²,
Martín F. Montaña-Gómez^{*3}, Víctor M. González-Vizcarra³
and Julio Ly-Carmenatti⁴

¹Estudiante de Posgrado CBAP. Universidad Autónoma de Nayarit, México, E-mail: abonilla@nayar.edu.mx,

²Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootécnica, Universidad Autónoma de Nayarit, Nayarit, México, E-mail: drclemus@yahoo.com.mx,

³Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California, México, *E-mail: mmontano5@yahoo.com,

⁴Instituto de Investigaciones Porcinas, La Habana, Cuba, E-mail: jly@iip.co.cu
*Corresponding Author

SUMMARY

The objective was to evaluate four inclusion levels of corn stover (CS): T₁₅, T₃₀, T₄₅ and T₆₀ %, on ruminal fermentation, digestibility (D) and methane production in sheep. A 4 x 4 latin square experimental design was used, with four wethers with ruminal and duodenal cannula, and four periods of 14 days. Feed was offered at 2.2 % of live weight, in two portions day⁻¹. Total concentration of VFA were similar (P>0.05) in T₁₅, T₃₀ and T₄₅, but higher (P<0.01) in T₁₅ (103.7) than in T₆₀ (67.6 mmol L⁻¹). VFA molar proportions were similar (P>0.05) between treatments, with a mean of 66.4, 20.9 and 12.8 % for acetate, propionate and butyrate, respectively. DMD was higher (P<0.01) in T₁₅ (75.3 %) than in others (67.2 %), but OMD differed only between T₁₅ and T₆₀: 61.9 % vs 47.5 %. CPD averaged 62.0 %. NDFD was higher (P<0.01) in T₁₅ (55.0 %) than in others (37.5 %). Estimated methane production did not differ (P>0.05) between treatments, with a mean of 0.61 mol mol⁻¹ of fermented glucose equivalent, but if expressed in mol kg⁻¹ of fermented OM, there were differences (P<0.01) only between T₁₅ and T₆₀: 1.30 vs 1.65. Mayor differences were between T₁₅ and T₆₀: it is possible to include until 45 % CS without affecting efficiency and without increasing methane production.

Keywords: Corn stover; sheep; methane.

RESUMEN

El objetivo fue evaluar cuatro niveles de rastrojo de maíz (RM) en dietas para ovinos: T₁₅, T₃₀, T₄₅ y T₆₀ %, sobre fermentación ruminal, digestibilidad (D) y producción de metano. Diseño: cuadrado latino 4 x 4, con cuatro ovinos canulados en rumen y duodeno, y cuatro periodos de 14 días. El alimento se ofreció al 2.2 % del peso vivo en dos porciones día⁻¹. La concentración total de AGVs fue similar en T₁₅, T₃₀ y T₄₅, pero mayor (P<0.01) en T₁₅ (103.7 mmol L⁻¹) que en T₆₀ (67.6 mmol L⁻¹); la proporción molar fue similar (P>0.05) entre tratamientos, con promedios de 66.4, 20.9 y 12.8 % de acético, propiónico y butírico, respectivamente. La DMS fue mayor (P<0.01) en T₁₅ (75.3 %) que en el resto (67.2 %), pero la DMO solo difirió entre T₁₅ y T₆₀: 61.9 vs 47.5 %. La DPC (P>0.05) promedió 62.0 %. La DFDN fue mayor (P<0.01) en T₁₅ (55.0 %) que en el resto (37.5 %). La producción estimada de metano no difirió (P>0.05) entre tratamientos, promediando 0.61 mol mol⁻¹ de glucosa fermentada, aunque expresada en mol kg⁻¹ MO digestible consumida, difirió (P<0.01) entre T₁₅ y T₆₀: 1.30 vs 1.65. Las mayores diferencias se observaron entre T₁₅ y T₆₀, por lo que es posible incluir hasta 45 % de RM sin afectar eficiencia y sin aumentar producción de metano.

Palabras clave: Rastrojo de maíz; ovinos; metano.

INTRODUCCIÓN

Existen numerosas regiones en México y en muchos otros países en las que los residuos de cosecha de granos de cereales, oleaginosas y leguminosas, también llamados esquilmos agrícolas, se usan como alimento para rumiantes. Recientemente se ha estimado una producción de esquilmos de 90 millones de toneladas anuales en México, de las cuales, el rastrojo de maíz ocupó el primer lugar con alrededor de 32 millones de toneladas (Escamilla y Basurto, 2008), por lo que estos continúan siendo un recurso alimenticio importante para rumiantes, aunque debido a su forma y composición se ha sugerido aplicar procesos o tratamientos físicos, químicos y/o biológicos a los esquilmos para mejorar su valor nutricional, de lo contrario la eficiencia en su utilización es menor del 50 % (Elizondo, 1998; Fuentes *et al.*, 2001; Martínez-Loperena *et al.*, 2011).

Por otra parte, recientemente ha aumentado la preocupación por la emisión excesiva de gases de efecto invernadero (GEI) y su contribución al calentamiento global y al cambio climático, cuyos efectos incluyen: mayor frecuencia e intensidad de eventos climáticos extremos, así como cambios en los patrones de temperatura y precipitación, lo cual tendrá un alto impacto en los sistemas alimenticios y en la seguridad alimentaria. Los rumiantes contribuyen de manera importante con la producción de metano (CH₄) derivado de la fermentación ruminal y se ha estimado que su contribución puede representar hasta el 90 % del aporte con que las actividades agrícolas participan a la emisión global (Johnson y Johnson, 1995). Los beneficios de controlar las emisiones de CH₄ serían más inmediatos que los beneficios a largo plazo que se esperan del control de emisiones de CO₂ (Moss *et al.*, 1994), debido al menor tiempo de permanencia del CH₄ en la atmósfera (López *et al.*, 2011)

Considerando las situaciones expuestas, es necesario realizar investigaciones que por una parte contribuyan a la utilización más eficiente de la gran cantidad de esquilmos agrícolas que se generan, y por otra, que busquen alternativas para reducir o minimizar la cantidad de CH₄ emitido por rumiantes alimentados con base en esquilmos. El objetivo de este trabajo fue evaluar niveles de inclusión de rastrojo de maíz en dietas para ovinos: sus efectos sobre la eficiencia de utilización de la dieta y la producción de CH₄.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó de junio a octubre de 2010 en la Unidad Académica de Agricultura de la Universidad Autónoma de Nayarit, en Xalisco, Nayarit, México, ubicada a los 21° 25' 31" de LN y a

los 104° 53' 30" de LO, a una altitud de 974 msnm, con clima subhúmedo semicálido, Medina *et al.* (1998); LNMSR-INIFAP (2011). Los tratamientos (T) consistieron en cuatro niveles de inclusión de rastrojo de maíz (RM) en dietas completas para ovinos: T₁₅ = 15 %, T₃₀ = 30 %, T₄₅ = 45 %, y T₆₀ = 60 %, las cuales se formularon para cubrir los requerimientos de mantenimiento que sugiere el NRC (2007), para ovinos de 40 kg y tuvieron en promedio una proporción forraje: concentrado de 60:40 (Tabla 1). Se utilizaron cuatro ovinos machos, de raza Pelibuey, de 40 kg de peso corporal promedio, provistos de cánulas ruminales y duodenales permanentes. Los animales se alojaron en corraletas individuales techadas en su totalidad, con comedero metálico y bebedero automático. Se alimentaron dos veces al día (07:00 y 19:00 h) a un nivel fijo de consumo: 2.2 % del peso corporal, en base seca (BS). Su manejo se apejó a lo establecido por la norma oficial mexicana "Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio" (NOM-062-ZOO-1999). El estudio se realizó durante cuatro periodos de 14 días cada uno, 10 días para adaptación a la dieta y los últimos cuatro para la obtención de muestras de heces, quimo y líquido ruminal. Las heces se colectaron en su totalidad. De quimo se obtuvieron en total 300 ml animal⁻¹ día⁻¹, en dos colectas día⁻¹ en horarios diferidos cada día, de tal manera que la muestra compuesta contenía submuestras de 1, 2.5, 4, 5.5, 7, 8.5, 10 y 11.5 h postpandriales. Al final de cada periodo se conformó una muestra compuesta tanto del quimo como de las heces, se secaron a 55° C, se molieron en un molino Wiley con criba de 1mm y se conservaron hasta el momento de analizarlas. El último día de cada periodo se colectó líquido ruminal a las cuatro horas postpandriales e inmediatamente se midió el pH. Se conservaron 40 ml a los que se adicionaron 10 mL de ácido metafosfórico al 25 % (peso/volumen) como conservador y se congelaron a -20° C hasta el momento del análisis de ácidos grasos volátiles (AGVs) por cromatografía de gases en un cromatógrafo HP 5890 series II. Para estimar la digestibilidad aparente en el tracto total se usó óxido de Cromo (Cr₂O₃) como marcador interno, administrado en capsulas de gelatina dos veces día⁻¹ por vía intrarruminal. A las muestras se les realizaron los siguientes análisis: Materia seca (MS), cenizas, proteína cruda (PC = N x 6.25), extracto etéreo (EE), nitrógeno amoniacal (N-NH₃), AOAC (1990), almidón, Zinn (1990), purinas, Zinn y Owens (1986), fibra detergente neutro (FDN) sin enzimas ni sulfito de sodio, fibra detergente ácido (FDA) y lignina Van Soest *et al.* (1991), digestibilidad verdadera *in vitro* de la MS a 48 h (DIVMS), Tilley y Terry (1963) y de acuerdo al procedimiento para el uso del incubador Daisy^{II}, Ankom (2010), AGVs, (Erwin *et al.*, 1961) y Cr₂O₃, Hill y Anderson (1958). Se calcularon N

microbiano (NM) y materia orgánica fermentada (MOF) en el rumen, Galyean (2010). La producción de CH₄ se estimó a partir del balance teórico de la fermentación de acuerdo con la distribución molar de AGVs determinados en el líquido ruminal, Wolin (1960). Se usó un diseño de cuadrado latino 4 x 4, de acuerdo al modelo de efectos fijos: $Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j +$

$T_k + E_{ijk}$, donde A correspondió al animal, P al periodo, T al tratamiento y E al error residual. Se efectuó un análisis de varianza que incluyó los efectos del animal, del periodo y del tratamiento, Steel y Torrie (1980). La comparación de medias entre tratamientos se efectuó mediante la prueba de Tukey, utilizando el paquete estadístico, SAS (2007).

Tabla 1. Composición de las dietas-tratamientos, % BS.

Ingredientes	Tratamientos			
	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₅	T ₆₀
Rastrojo de maíz	15.4	30.7	45.8	60.7
Alfalfa	43.0	32.5	11.0	0.6
Sorgo	27.5	13.3	9.9	-
GSDS	6.0	15.3	17.5	24.6
Canola	3.0	3.0	10.0	10.6
Melaza	4.2	4.2	4.2	2.1
Carbonato de Ca	0.6	0.6	1.1	1.1
Sal común	0.4	0.4	0.4	0.4
Minerales traza	0.05	0.05	0.05	0.05
Composición calculada				
PC %	13.48	13.43	13.38	13.28
EM Mcal kg ⁻¹ MS	2.47	2.46	2.45	2.44

GSDS: Granos secos de destilería con solubles (abreviados en inglés DDGS “dried distillers grains plus solubles”),

PC: Proteína cruda (N x 6.25), EM: Energía metabolizable.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se registraron diferencias ($P < 0.01$) en la composición química, particularmente en la MS, EE, almidón, FDN, FDA, así como en la DIVMS de los tratamientos (Tabla 2), atribuibles a la distinta proporción de los ingredientes en las dietas. La concentración de almidón y la DIVMS fueron diferentes ($P < 0.01$) en los cuatro tratamientos. A medida que se incrementó el nivel de RM en la dieta, el almidón se redujo de 21.6 en T₁₅ a 2.2 % en T₆₀, y la DIVMS disminuyó de 81.6 % en T₁₅ a 69.9 % en T₆₀. De la misma manera, se observaron diferencias ($P < 0.01$) en la FDN y en la FDA, cuya cantidad fue mayor en los tratamientos con mayor proporción de RM. La hemicelulosa y la lignina fueron similares, con promedios de 23.2 % y 9.0 %, respectivamente. Dado el nivel fijo de oferta y como consecuencia de la variación en la concentración de algunos nutrientes entre los tratamientos, se detectaron diferencias ($P < 0.01$) en el consumo de estos, particularmente MS, EE, almidón, FDN y FDA (Tabla 3). El consumo de MO, cenizas, PC y lignina fue similar ($P > 0.05$) entre tratamientos y promedió 759, 94, 128.4 y 77 g animal⁻¹ día⁻¹, respectivamente. No ocurrió rechazo de alimento durante todo el experimento.

La concentración molar de los ácidos acético y butírico fue diferente ($P < 0.01$) entre T₁₅ y T₆₀ (Tabla 4), aunque la proporción molar de estos fue similar ($P > 0.05$) en los cuatro tratamientos (Tabla 5), cuyos promedios fueron 66.4, 20.9 y 12.8 % para los ácidos acético, propiónico y butírico, respectivamente. La concentración molar de los ácidos propiónico, isobutírico, valérico e isoalérico no difirió ($P > 0.05$) entre tratamientos. La concentración total de AGVs fue similar ($P > 0.05$) en T₁₅, T₃₀ y T₄₅, pero diferente entre T₁₅ y T₆₀: 103.7 vs 67.6 mmol L⁻¹. El pH del líquido ruminal y la proporción acético:propiónico fueron similares ($P > 0.05$) entre tratamientos, cuyos promedios fueron 6.51 y 3.2:1, respectivamente. La concentración total de AGVs en el líquido ruminal siguió el patrón reportado por Park *et al.* (1994) y Rinne *et al.* (1997), en novillos para carne, en los que la concentración se incrementó al aumentar la digestibilidad del forraje y del ensilado, respectivamente. Hart *et al.* (2009), al alimentar vaquillas con forraje fresco de ryegrass de baja: 70.6 % o alta: 82.9 % DIVMS, reportaron concentraciones totales de AGVs de 99 y 106 mmol L⁻¹ respectivamente.

Tabla 2. Composición química y digestibilidad *in vitro* de las dietas-tratamientos, % BS

Fracción	Tratamientos				EEM	Valor de P
	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₅	T ₆₀		
MS	85.6 b	86.0 b	87.2 a	87.2 a	0.8	< 0.01
MO	90.7	88.8	86.7	89.6	1.8	0.13
CEN	9.3	11.1	13.3	10.4	1.8	0.13
PC	15.9 a	15.1 ab	14.2 b	15.0 ab	0.6	0.03
EE	1.9 b	2.1 b	2.4 ab	2.8 a	0.2	< 0.01
ALM	21.5 a	12.5 b	8.7 c	2.2 d	0.0	< 0.01
FDN	50.3 c	52.5 bc	53.9 b	60.2 a	1.1	< 0.01
FDA	25.1 c	30.5 b	30.2 b	38.4 a	1.3	< 0.01
HCEL	25.2	21.9	23.8	21.8	1.8	0.15
LIG	6.7	8.8	9.4	10.9	0.6	0.09
DIVMS	81.6 a	77.7 b	74.6 c	69.9 d	0.3	< 0.01

MS: materia seca, MO: materia orgánica, CEN: cenizas, PC: proteína cruda (N x 6.25), EE: extracto etéreo, ALM: almidón, FDN: fibra detergente neutro, FDA: fibra detergente ácido, HCEL: hemicelulosa, LIG: lignina, DIVMS: digestibilidad *in vitro* de la MS a 48 h. EEM: error estándar de la media. Distintas literales por renglón, indican diferencia significativa.

Tabla 3. Consumo de los componentes de las dietas-tratamientos, g animal⁻¹ d⁻¹

Fracción	Tratamientos				EEM	Valor de P
	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₅	T ₆₀		
MS	843.5 b	847.9 b	859.5 a	860.2 a	8.0	< 0.01
MO	765.2	753.4	745.1	770.6	14.3	0.21
CEN	78.3	94.5	114.4	89.6	15.9	0.12
PC	134.1	128.3	121.8	129.3	4.8	0.08
EE	16.2 c	17.4 bc	20.7 ab	23.7 a	2.0	< 0.01
ALM	181.7 a	105.9 b	74.4 c	18.7 d	1.1	< 0.01
FDN	424.0 c	444.9 bc	463.6 b	518.0 a	9.6	< 0.01
FDA	211.5 c	258.9 b	259.5 b	330.0 a	10.3	< 0.01
HCEL	212.6	186.0	204.1	188.0	16.1	0.17
LIG	56.7	75.0	81.2	93.7	14.4	0.08

MS: materia seca, MO: materia orgánica, CEN: cenizas, PC: proteína cruda (N x 6.25), EE: extracto etéreo, ALM: almidón, FDN: fibra detergente neutro, FDA: fibra detergente ácido, HCEL: hemicelulosa, LIG: lignina. EEM: error estándar de la media. Distintas literales por renglón, indican diferencia significativa.

En el presente estudio la dieta con baja DIVMS (69.9 %) produjo menor concentración total de AGVs: 67.6 mmol L⁻¹, respecto al valor reportado por Hart *et al.* (2009), pero la dieta con alta DIVMS (81.6 %) resultó en un valor cercano al reportado por estos mismos autores: 103.7 mmol L⁻¹, e inclusive mayor a la reportada por Kaya *et al.* (2009): 98.6, 95.3 y 83.0 mmol L⁻¹ con dietas altas en grano conteniendo 10.2, 13.5 y 16.0 % de PC, respectivamente. Por su parte, Corona *et al.* (1999), obtuvieron una concentración

total de AGVs de 82.2 mmol L⁻¹ con una dieta conteniendo 66.5 % de RM, valor también superior al encontrado en este trabajo en T₆₀ (67.6 mmol L⁻¹), mientras que muy similar a T₃₀ (84.9) y T₄₅ (81.1 mmol L⁻¹). La proporción molar promedio de los cuatro tratamientos de los ácidos acético, propiónico y butírico: 66.4, 20.9 y 12.8 %, respectivamente, fue similar a la reportada por Corona *et al.* (1999): 67.1, 20.0 y 12.8 %, respectivamente.

Tabla 4. Concentración de ácidos grasos volátiles (AGVs) en líquido ruminal de ovinos consumiendo dietas con cuatro niveles de rastrojo de maíz, mmol L⁻¹.

Ácido	Tratamientos					Valor de P
	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₅	T ₆₀	EEM	
acético	66.4 a	54.0 ab	51.4 ab	43.1 b	8.1	0.02
propiónico	20.7	17.4	15.4	14.5	4.4	0.25
butírico	12.9 a	10.3 ab	10.6 ab	7.3 b	1.4	0.01
isobutírico	1.4	1.2	1.3	1.0	0.2	0.38
valérico	1.2	1.0	1.1	0.8	0.2	0.16
isovalérico	1.2	1.1	1.3	0.8	0.3	0.35
AGVs totales	103.7 a	84.9 ab	81.1 ab	67.6 b	12.8	0.03

EEM: error estándar de la media.

Distintas literales por renglón, indican diferencia significativa.

Tabla 5. pH, proporción de ácidos grasos volátiles (mol 100 mol⁻¹) y proporción acético:propiónico en líquido ruminal de ovinos consumiendo dietas con cuatro niveles de rastrojo de maíz

Indicador	Tratamientos					Valor de P
	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₅	T ₆₀	EEM	
pH	6.40	6.55	6.48	6.59	0.1	0.17
acético	66.6	66.1	66.4	66.4	1.6	0.95
propiónico	20.2	21.2	19.7	22.4	2.4	0.50
butírico	13.2	12.7	13.9	11.3	1.8	0.28
proporción acético:propiónico	3.4:1	3.1:1	3.4:1	3.0:1	0.5	0.52

EEM: error estándar de la media.

Lana *et al.* (1998), encontraron relación entre la proporción acetato:propionato y el pH ($r^2=0.82$) usando dietas con proporciones forraje:concentrado desde 10:90 hasta 100:0. Al sustituir en la ecuación de estos autores el pH obtenido en el presente estudio (6.51) la predicción del radio acetato:propionato fue de 3.4:1, la cual es cercana al valor real de 3.2:1. Tanto el pH como la proporción acetato:propionato del presente estudio coinciden con los reportados por Lana *et al.* (1998), para la dieta con la proporción forraje:concentrado de 55:45, similar a la usada en el presente estudio. Estos autores mencionaron que la reducción en el pH ruminal, puede disminuir la producción de CH₄ y de amoníaco. El pH promedio obtenido en el presente estudio: 6.51, es similar al valor de 6.48 reportado por Corona *et al.* (1999), en ovinos alimentados con una dieta conteniendo 66.5 % de RM.

La producción estimada de CH₄ fue similar ($P>0.05$) entre tratamientos, con una media de 0.61 mol mol⁻¹ de glucosa fermentada (Tabla 6). La producción de CH₄ expresada en mol kg⁻¹ de MO digestible consumida, fue mayor y diferente ($P=0.046$) en T₆₀

(1.65) que en T₁₅ (1.30). Respecto a esta variable, Moss *et al.* (2000), mencionaron que las emisiones de CH₄ están estrechamente relacionadas con la cantidad de MO fermentada en el rumen o la cantidad de MO digestible, ya que generalmente más del 50 % de la digestión ocurre en éste compartimento. La producción estimada de CH₄ fue similar a la reportada por López *et al.* (2006), quienes obtuvieron en promedio 0.67 mol de CH₄ mol⁻¹ glucosa fermentada al evaluar dietas con heno de sudan o paja de arroz como forraje, con una proporción forraje concentrado de 40:60, mientras que en el presente estudio la proporción fue de 60:40. Por su parte, Zinn *et al.* (1996), al evaluar dietas para engorde con alta proporción de concentrado basado en granos, reportaron valores de 0.36 a 0.49 mol de CH₄ mol⁻¹ glucosa fermentada, los cuales al igual que otros reportes en la literatura son inferiores a los obtenidos con dietas altas en forrajes. Contrario a lo que se esperaba, no se detectó diferencia en la producción estimada de CH₄ debido al nivel de RM en la dieta, particularmente con el nivel más alto (T₆₀), lo que pudiera atribuirse al relativamente alto contenido (24.6 %) de granos secos de destilería con solubles

(GSDS) en este tratamiento, ya que de acuerdo a McGinn *et al.* (2009), la adición de 35 % de GSDS a dietas conteniendo 60 % de ensilado de cebada, redujo las emisiones absolutas de CH₄ hasta en 19.9 % y en 16.4 % al ajustarlas por el consumo de MS, debido al elevado contenido de lípidos en los GSDS, que oscila de 8.2 a 11.7 % (Spehs *et al.*, 2002). Por su parte, Behlke (2007), encontró que la sustitución de forrajes con GSDS atenuó la emisión de CH₄ en rumiantes. Se ha mencionado que la adición de 3.0 % de lípidos a dietas altas en forraje disminuyen la emisión de CH₄ en 15 % como porcentaje de la energía bruta consumida, o bien, por cada 1.0 % de adición de grasa suplementaria la producción de CH₄ (g kg⁻¹ MS consumida) se reduce en 5.6 %, Beauchemin *et al.* (2007). Los mecanismos por los que se sabe que los lípidos afectan la producción de CH₄ han sido resumidos por Ungerfeld *et al.*, (2005) en tres tipos: a) los ácidos grasos insaturados compiten con la metanogénesis por equivalentes reductores durante la biohidrogenación en el rumen, b) disminución del número de protozoarios, c) toxicidad directa de aceites y ácidos grasos puros en los microorganismos metanogénicos, la cual está relacionada positivamente con el grado de instauración.

Existen varios estudios que abordan la relación entre el consumo y la digestibilidad de la MS y/o de la MO con la producción de CH₄: Pelchen y Peters (1998), reportaron que no encontraron diferencias en la producción diaria de CH₄ por ovinos a los que se ofrecieron dietas con un rango de digestibilidad de 60 a 80 %, pero si se observaron diferencias cuando la digestibilidad fue menor de 60 %, que no fue el caso del presente estudio; Kurihara *et al.* (1999), encontraron mayor producción de CH₄ (g kg⁻¹ MO digestible consumida) en ganado Brahman que consumió zacate Angleton (75.4), que en el que consumió zacate Rhodes (64.6) o que consumió una dieta alta en grano (32.1), y atribuyeron estas diferencias a que en el caso del Angleton fue un forraje tropical maduro, con baja digestibilidad y bajo

contenido de N, mientras que el Rhodes correspondió a un forraje inmaduro de media digestibilidad y medio contenido de N, y la dieta alta en grano tenía alta digestibilidad y alto contenido de N. Estos autores encontraron una alta relación entre el consumo de MS y la producción de CH₄ con los forrajes tropicales, pero no con la dieta alta en grano. Recientemente, López *et al.* (2011), determinaron la producción de CH₄ en caprinos por “respirometría”, definida como calorimetría indirecta mediante una máscara de circuito abierto adaptada a pequeños rumiantes; estos últimos autores no reportaron diferencias en la producción de CH₄ (expresado en proporción a la ingestión de energía bruta) entre dietas conteniendo cebada ó maíz como fuente de grano, cuyo promedio fue de 4.8 %.

La digestibilidad aparente *in vivo* en el tracto total (DT) de la MS fue superior y diferente (P<0.01) en T₁₅ (75.3 %) que en T₃₀, T₄₅, y T₆₀, cuyo promedio fue de 67.2 % (Tabla 7). La DTMO difirió (P=0.02) 14.4 unidades porcentuales entre T₁₅ y T₆₀: 61.9 % vs 47.5 %, mientras que la DTPC no se afectó por los tratamientos, siendo en promedio de 62 %. La DT del almidón fue igual (P<0.05) en T₁₅, T₃₀, y T₄₅ con promedio de 96.4 %, siendo superior al 83.8 % de T₆₀. Respecto a la DTFDN, ésta fue mayor (55.0 %) y diferente (P<0.01) en T₁₅ que en T₃₀, T₄₅, y T₆₀, cuyo promedio fue de 37.5 %. El consumo de MO digestible fue un reflejo de la DTMO y solo fue diferente entre los tratamientos con el menor y el mayor contenido de RM; la diferencia fue de 108 g animal⁻¹ día⁻¹.

Se observó una diferencia numérica de 6.3, 8.8, 9.6 y 2.3 unidades porcentuales a favor de la DIVMS vs la DTMS para cada uno de los tratamientos, resultando en un promedio de 6.75 unidades, lo cual pudiera atribuirse a los factores cinéticos e interacciones a los que no está sujeta la muestra *in vitro*, tales como variación en tamaño de partícula, variabilidad en la tasa de dilución y de recambio a través del tiempo y permanencia en el tracto digestivo, entre otros.

Tabla 6. Producción estimada de metano en líquido ruminal de ovinos consumiendo dietas con cuatro niveles de rastrojo de maíz.

Fracción	Tratamientos				EEM	Valor de P
	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₅	T ₆₀		
mol mol ⁻¹ de glucosa fermentada	0.61	0.60	0.62	0.60	0.03	0.64
mol kg ⁻¹ MOD consumida	1.30 b	1.49 ab	1.54 ab	1.65 a	0.20	<0.05

EEM: error estándar de la media.

Distintas literales por renglón, indican diferencia estadística significativa.

La DMS de T₆₀ (67.6 %), resultó mayor que el 53.2 % obtenido por Corona *et al.* (1999), con una dieta que contenía 66.5 % de RM. La DPC obtenida por estos últimos autores (48.0 %) también fue menor al 62.0 % del presente estudio, mientras que la DFDN (34.4 %) fue menor al 64.8 % reportado por Corona *et al.* (1999).

La digestibilidad ruminal (DR) de la MS y del almidón fueron similares (P>0.05) entre tratamientos, con promedios de 48.4 % y de 65.1 %, respectivamente (Tabla 8). La DRMO en T₁₅ fue mayor (P=0.04) en comparación a T₆₀ (35.9 % vs 13.5

%), lo que correspondió a una cantidad de 274 y 104 g día⁻¹ de MO fermentada en el rumen para T₁₅ y T₆₀, respectivamente. La DRFDN, fue mayor (46.9 %) y diferente (P<0.01) en T₁₅ vs T₃₀, T₄₅, y T₆₀, que promediaron 23.5 %. Čerešňáková *et al.* (2006) reportaron una DRMO de 43.1 % y DR del almidón de 78.6 % en una dieta con 27 % de maíz, valores mayores a los de T₁₅ del presente estudio: 35.9 % y 70.1 %, el cual contenía 27 % de sorgo, aunque Herrera-Saldaña *et al.* (1990), mencionaron que la degradabilidad ruminal del sorgo fue la menor de cinco cereales; avena: 98, trigo: 95, cebada: 90, maíz: 62 y sorgo: 49 %.

Tabla 7. Coeficientes de digestibilidad aparente en el tracto total de los componentes de las dietas-tratamientos, % del consumo.

Fracción	Tratamientos				EEM	Valor de P
	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₅	T ₆₀		
MS	75.3 a	68.9 b	65.0 b	67.6 b	4.6	< 0.01
MO	61.9 a	54.6 ab	54.1 ab	47.5 b	4.8	0.02
PC	62.8	61.8	60.0	63.5	4.4	0.59
ALM	97.5 a	96.6 a	95.0 a	83.8 b	1.7	< 0.01
FDN	55.0 a	41.9 b	36.3 b	34.4 b	7.2	< 0.01
FDA	23.8	18.0	6.1	18.4	10.6	0.11
HCEL	86.0 a	74.9 a	75.2 a	62.4 b	7.9	< 0.01
CMOD g animal ⁻¹ d ⁻¹	473.4 a	411.3 ab	403.1 ab	365.9 b	37.1	0.02

MS: materia seca, MO: materia orgánica, PC: proteína cruda (N x 6.25), ALM: almidón, FDN: fibra detergente neutro, FDA: fibra detergente ácido, HCEL: hemicelulosa, CMOD: consumo de MO digestible. EEM: error estándar de la media.

Distintas literales por renglón, indican diferencia significativa.

Tabla 8. Coeficientes de digestibilidad aparente en el rumen de los componentes de las dietas-tratamientos, % del consumo.

Fracción	Tratamientos				EEM	Valor de P
	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₅	T ₆₀		
MS	57.3	44.9	45.8	45.5	10.0	0.10
MO	35.9 a	21.9 ab	31.2 ab	13.5 b	10.4	0.04
ALM	70.1	70.7	74.1	45.6	11.0	0.06
FDN	46.9 a	26.8 b	29.3 b	14.4 b	14.4	< 0.01
HCEL	78.5 a	64.6 ab	65.9 ab	41.7 b	15.9	0.03
MOF	274.3 a	164.3 ab	232.6 ab	103.6 b	78.2	0.04

MS: materia seca, MO: materia orgánica, ALM: almidón, FDN: fibra detergente neutro, HCEL: hemicelulosa, MOF: MO fermentada. EEM: error estándar de la media.

Distintas literales por renglón, indican diferencia significativa.

No se observaron diferencias ($P>0.05$) entre tratamientos en los nutrimentos indigeridos que fluyeron al intestino delgado, excepto en el almidón (Tabla 9). Esto último sugiere que el tiempo de retención de las partículas indigeridas en el rumen también pudo haber sido similar entre tratamientos. Al respecto, Tsiplakou *et al.* (2011), resumieron los factores que afectan el tiempo medio de retención, siendo estos: nivel de alimentación, proporción forraje:concentrado, contenido de carbohidratos solubles y de sales minerales, gravedad específica de las partículas, tamaño de partícula, características de la dieta, secreción de saliva, motilidad ruminal, condición fisiológica y especie animal. En ovinos se han reportado tiempos de retención en el rumen de 30.03 h, tiempo de retención en el ciego de 1.98 h, tiempo medio de retención de 40.8 h y tiempo de tránsito de 8.86 h (Tsiplakou *et al.*, 2011). Los flujos de MS y de PC al duodeno promediaron 440 y 84 g animal⁻¹ día⁻¹, respectivamente. Al desagregar la PC que fluyó al duodeno en: proteína microbiana sintetizada en el rumen (PM) y proteína sobrepasante proveniente de la dieta (PS), tampoco se observaron diferencias ($P>0.05$) en ninguna de las dos fuentes de proteína al duodeno. La cantidad de N microbiano que fluyó al duodeno promedió 6.8 g d⁻¹, que fue equivalente a 42.4 g de PM animal⁻¹ día⁻¹. El valor promedio de este estudio es cercano, aunque ligeramente mayor, al reportado por Herrera *et al.* (2006), quienes encontraron un aporte de N microbiano al duodeno de 4.7 a 6.2 g d⁻¹ en ovinos Pelibuey de 45 kg de peso vivo alimentados con heno de pasto Guinea (*Panicum máximum*) de baja calidad a libre acceso, más 300 g de un concentrado comercial con 16 % de PC. La PS representó en promedio el 49.1 % de la PC consumida. La eficiencia microbiana (g N microbiano kg⁻¹ MO

fermentada) fue en promedio de 34.3 g N kg⁻¹ MOF, sin embargo, aún cuando la diferencia no fue significativa, los valores de T₃₀, T₄₅ y T₆₀ fueron 53.9, 22.9 y 83.7 % mayores que T₁₅, lo cual pudiera atribuirse a las diferencias entre tratamientos en la MO fermentada. Al respecto, el NRC (2007) mencionó que el factor que más afecta la síntesis de PM es la cantidad de energía o de MO fermentada en el rumen. Solo se detectó diferencia ($P<0.01$) entre tratamientos en el almidón que fluyó al duodeno, siendo mayor en T₁₅ que en T₄₅ y T₆₀: 54.3 vs 19.3 y 10.2 g animal⁻¹ día⁻¹, respectivamente, observándose en T₃₀ un valor intermedio de 31.0 g animal⁻¹ día⁻¹. Las similitudes y diferencias entre tratamientos en el flujo de nutrimentos indigeridos hacia el duodeno son un reflejo del consumo de nutrimentos y de la digestibilidad de éstos en el rumen. La similitud en la PM es indicativa de que en ninguno de los tratamientos ocurrió desbalance de energía y N (Budag y Bolat, 2010).

CONCLUSIONES

La mayoría de diferencias significativas ocurrieron entre el menor y el mayor nivel de RM en la dieta, siendo siempre desfavorables para el nivel de 60 %, por lo que se puede incluir hasta el 45 % sin detrimento en la producción total de AGVs ni en la digestibilidad de la materia orgánica. La producción estimada de CH₄ no se afectó por el nivel de RM en la dieta a un nivel restringido de consumo. Cuando se expresó en función del consumo de materia orgánica digestible, ocurrió mayor producción de CH₄ solo con mayor nivel de RM. Se sugiere realizar pruebas de consumo de alimento a libertad, a fin de evaluar el comportamiento productivo de ovinos en crecimiento y finalización y su relación con la producción de metano.

Tabla 9. Flujo al duodeno de los componentes (indigestibles) de las dietas-tratamientos, g animal⁻¹ d⁻¹.

Fracción	Tratamientos				EEM	Valor de P
	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₅	T ₆₀		
MS	360.4	466.9	465.8	468.7	86.0	0.08
PC	78.5	90.7	81.9	85.0	18.1	0.64
ALM	54.3 a	31.0 ab	19.3 b	10.2 b	10.1	<0.01
g N microbiano	6.5	7.4	6.5	6.8	1.5	0.59
PM sintetizada en rumen, g	41.0	46.1	40.1	42.5	9.5	0.60
PC sobrepasante, %	47.4	48.9	50.1	50.1	5.4	0.40
Eficiencia microbiana ¹	24.5	37.7	30.1	45.0	19.3	0.29

MS: materia seca, PC: proteína cruda (N x 6.25), ALM: almidón, PM: proteína microbiana. ¹ g N microbiano kg⁻¹ MOF. EEM: error estándar de la media.

Distintas literales por renglón, indican diferencia significativa.

AGRADECIMIENTOS

A los Fondos mixtos Conacyt - Gob. del Edo. de Nayarit, por el financiamiento parcial para la realización de esta investigación a través del proyecto CO1/93389: Fortalecimiento del Doctorado en Ciencias Biológico Agropecuarias y Pesqueras; al Desert Research and Extension Center (University of California) por las facilidades para la determinación de ácidos grasos volátiles, almidón, purinas y cromo; al INIFAP por la beca otorgada para la realización de estudios de doctorado del primer autor.

REFERENCIAS

- ANKOM. 2010. Operator's manual. Daisy^{II} incubator. Ankom Technology, Macedon, N.Y.
- AOAC. 1990. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemist. Vol 1, 15th ed. Association Official Analytical Chemist. Washington, D.C.
- Beauchemin, K.A., McGinn S.M. and Petit, H.V. 2007. Methane abatement strategies for cattle: Lipid supplementation of diets. Canadian Journal Animal Science. 87:431-440.
- Behlke, J.E. 2007. Attenuation of ruminal methanogenesis. PhD Diss. University of Nebraska, Lincoln, U.S.A.
- Budag, C. and Bolat, D. 2010. Effect of different protein sources on microbial protein synthesis in sheep feed maize based diets. Journal Animal Veterinary Advances. 9:623-630.
- Čerešňáková, Z., Chrenková M., Sommer A., Flák, P. and Poláčíková M. 2006. Origin of starch and its effect on fermentation in the rumen and amino acids passage to the intestine of cows. Slovak Journal Animal Science. 39: 10-15.
- Corona, L., Mendoza G.D., Castrejon F.A., Crosby M.M. y Cobos, M.A. 1999. Evaluation of two yeast cultures (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal fermentation and digestion in sheep fed a corn stover diet. Small Ruminant Research. 31:209-214.
- Elizondo, E.I. 1998. Evaluación de tratamientos alcalinos sobre la calidad nutricional de subproductos lignocelulósicos. Tesis de Doctorado. Universidad de Colima, México.
- Erwin, E.S., Marco, G.J., Emery, E. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. Journal Dairy Science. 44:1768-1776.
- Escamilla, M.A. y Basurto, G.R. 2008. Digestión *in situ* de bagazo de caño y otros residuos tratados por explosión de vapor. CIATEQ. Fondo sectorial Conacyt-Sagarpa, en: <http://www.ciateq.mx>. Consultado el 4 de octubre de 2011.
- Fuentes, J., Magaña C., Suárez L., Peña R., Rodríguez, S., Ortíz de la Rosa, B. 2001. Análisis químico y digestibilidad *in vitro* del rastrojo de maíz (*Zea mays* L.). Agronomía Mesoamericana 12: 189-192.
- Galyean, M.L. 2010. Laboratory procedures in animal nutrition research. Texas Tech University, Lubbock TX, U.S.A.
- Hart, J.K., Martin G.P., Foley A.P., Kenny D.A. and Boland, M.T. 2009. Effect of sward dry matter digestibility on methane production, ruminal fermentation, and microbial populations of zero-grazed beef cattle. Journal Animal Science. 87:3342-3350.
- Herrera-Saldaña, R.E., Huber J.T. and Poore M.H. 1990. Dry matter, crude protein, and starch digestibility of five grain cereals. Journal Dairy Science. 73:2386-2393.
- Herrera, C.J., Quintal, F.J.A., Williams, G.L., Quijano, C.R., Ku, V.J.C. 2006. Dry matter intake, rumen fermentation and microbial nitrogen supply in Pelibuey sheep fed low quality rations and different levels of corn oil. Interciencia. 31:525-529.
- Hill, F.H. and Anderson, D.L. 1958. Comparison of metabolizable energy and productive energy determinations with growing chicks. J Nutr p. 587-603.
- Johnson, K.A. and Johnson, D.E. 1995. Methane emissions from cattle. Journal Animal Science. 73:2483-2492.
- Kaya, I., Ünal Y., Sahin T. and Elmali, D. 2009. Effect of different protein levels on fattening performance, digestibility and rumen parameters in finishing lambs. Journal Animal Veterinary Advances. 8:309-312.
- Kurihara, M., Magner T., Hunter R.A. and McCrabb, G.J. 1999. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. British Journal Nutrition. 81:227-234.

- Laboratorio Nacional de Modelaje y Sensores Remotos-INIFAP. Red nacional de estaciones estatales agroclimáticas, en: <http://clima.inifap.gob.mx>. Consultado 5 de octubre de 2011.
- Lana, P.R., Russell B.J. and Van Amburgh, E.M. 1998. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. *Journal Animal Science*, 76:2190-2196.
- López, S.M.A., Arellano G.E., Barreras S.A., González V.V.M., García M.D., Plascencia J.A. y Zinn, A.R. 2006. Influencia de una enzima fibrolítica exógena y el proceso de maceración en un forraje de baja calidad sobre digestión y función ruminal en vacas Holstein secas. *Veterinaria Mexico*. 37:275-289.
- López, M.C., Ródenas, L., Piquer, O., Cerisuelo, A., Cervera, C. y Fernández, C. 2011. Determinación de producción de metano en caprinos alimentados con dietas con distintos cereales. *Archivos Zootecnia*. 60:943-951.
- Martínez-Loperena, R., Castelán-Ortega, O.A., González-Ronquillo, M., Estrada-Flores, J.G. 2011. Determinación de la calidad nutritiva, fermentación *in vitro* y metabolitos secundarios en arvenses y rastrojo de maíz utilizados para la alimentación del ganado lechero. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 14: 525-536.
- McGinn, S.M., Chung, Y.H., Beauchemin, K.A., Iwaasa, A.D. and Grainger, C. 2009. Use of corn distiller's dried grains to reduce enteric methane loss from beef cattle. *Canadian Journal Animal Science*. 89:409-413.
- Medina, G.G., Ruíz, C.J.A., Martínez, P.R. 1998. Los climas de México, una estratificación ambiental basada en el componente climático. Libro técnico núm. 1. INIFAP-SAGAR. México. 103 p.
- Moss, A.R., Givens, D.I., Garnsworthy, P.C. 1994. The effect of alkali treatment of cereal straws on digestibility and methane production in sheep. *Animal Feed Science Technology*. 49:245-259.
- Moss, A.R., Jounany, J.P. and Neewbold, J. 2000. Methane production by ruminants: Its Contribution to Global warming. *Annales Zootechnie* 49:231-253.
- NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Publicada en el DOF el 22/08/2001. México.
- NRC (National Research Council). Nutrient requirements of small ruminants. 2007. Animal nutrition series. The National Academic Press. Washington, D.C.
- Park, K.K., Krysl, L.J., McCracken, B.A., Judkins, M.B. and Holcombe, D.W. 1994. Steers grazing intermediate wheatgrass at various stages of maturity: Effects on nutrient quality, forage intake, digesta kinetics, ruminal fermentation, and serum hormones and metabolites. *Journal Animal Science*. 72:478-486.
- Pelchen, A. and Peters, K.J. 1998. Methane emissions from sheep. *Small Ruminant Research* 27(2):137-150.
- Rinne, M., Huhtanen, P. and Jaakkola, S. 1997. Grass maturity effects on cattle fed silage-based diets. 1. Organic matter digestion, rumen fermentation and nitrogen utilization. *Animal Feed Science Technology*. 67:1-17.
- S.A.S. 2007. Statistical Analysis System. SAS User's guide. SAS Institute Inc. Cary, N.C.
- Spiehs, M.J., Whitney, M.H. and Shurson, G.C. 2002. Nutrient database for distiller's dried grains with soluble produced from ethanol plants in Minnesota and South Dakota. *Journal Animal Science* 80:2639-2645.
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. Principles and procedures of statistics: A biometrical approach, 2nd Ed. McGraw-Hill, N.Y. 633 p.
- Tilley, J.M.A. and Terry, R.A. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal British Grassland Society*. 18:104-111.
- Tsiplakou, E., Hadjigeorgiou I., Sotirakoglou K. and Zervas, G. 2011. Differences in mean retention time of sheep and goats under controlled feeding practices. *Small Ruminant Research*. 95: 48-53.
- Ungerfeld, E.M., Rust, S.R., Burnett, R.J., Yokoyama, M.T., Wang, J.K. 2005. Effects of two lipids on *in vitro* ruminal methane production. *Animal Feed Science Technology*. 119:179-185.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch

- polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal Dairy Science*. 74:3583.
- Wolin, M.J. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *Journal Dairy Science*. 43:1452-1459.
- Zinn, R.A. and Owens, F.N. 1986. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. *Canadian Journal Animal Science*. 66:157-166.
- Zinn, R.A. 1990. Influence of steaming time on site of digestion of flaked corn in steers. *Journal Animal Science*. 68:776-781.
- Zinn, R.A, Montaño, M and Shen, Y. 1996. Comparative feeding value of hulless vs covered barley for feedlot cattle. *Journal Animal Science*. 74:1187-1193.

Submitted December 13, 2012 – Accepted February 22, 2012
Revised received April 18, 2012