



EFFECTO DEL TIPO DE GRANO Y NIVEL DE IONÓFORO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE GAS *in vitro* Y PERFIL FERMENTATIVO

[EFFECT OF GRAIN TYPE AND IONOPHORE LEVEL ON *in vitro* GAS PRODUCTION AND PROFILE FERMENTATIVE]

Amanda Isabel Osorio Teran^{1§}, German David Mendoza Martínez², Luis Alberto Miranda Romero³, Daniel Martínez Gómez², Pedro Abel Hernández García¹, Enrique Espinosa Ayala¹, Juan José Ojeda Carrasco¹

¹Universidad Autónoma del Estado de México / Centro Universitario UAEM Amecameca, Estado de México.
²Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco / Departamento de Producción Agrícola y Animal, México.
³Universidad Autónoma Chapingo / Posgrado Producción Animal. Texcoco, Estado de México. §Autor para correspondencia: (chaveuni_oso@hotmail.com).

RESUMEN

El uso de ionóforos en la producción animal y su uso en sistemas de producción intensivos es ampliamente conocido, ya que estos han mostrado mejorar los patrones de fermentación ruminal incrementando el porcentaje de propionato, reduciendo la producción de metano y mejorando el rendimiento productivo, sin embargo, estos efectos han mostrado ser inconsistentes entre especies, sobre todo en la producción ovina. Por lo que mediante la técnica de producción de gas *in vitro*, se evaluó el efecto del tipo de grano y nivel de ionóforo sobre variables de cinética de producción de gas y parámetros de fermentación ruminal *in vitro*, para lo cual se utilizaron como sustrato tres granos con diferente tasa de digestión: maíz, trigo y sorgo y se evaluaron tres niveles de ionóforo 0, 30 y 60 mg kg⁻¹. Los resultados se analizaron mediante un análisis factorial tres por tres (3 tipos de grano X 3 niveles de ionóforo) las medias se compararon con una prueba de Tukey con un nivel de significancia $p < 0.05$. Se encontró efecto por el tipo de grano sobre las variables de producción de gas, donde el uso de trigo incremento la producción de gas *in vitro*, incremento la proporción de propionato y redujo la proporción de metano ($p < 0.05$). Por otro lado no se encontró efecto por el nivel de ionóforos sobre ninguna de las variables evaluadas ($p > 0.05$). Finalmente podemos concluir que el tipo de grano modifico las variables de cinética de la producción de gas y perfil fermentativo *in vitro*, por lo que es importante evaluar el tipo de grano a utilizar en las raciones así como el uso de ionóforos para obtener las mejores repuestas productivas y lograr una producción animal más eficiente.

Palabras clave: grano, monensina, perfil fermentativo, propionato, tasa de digestión.

ABSTRACT

The use of ionophores in animal production and its use in intensive production systems is widely known, since these have been shown to improve ruminal fermentation patterns by increasing the percentage of propionate, reducing methane production and improving the performance productive, however, these effects have been shown to be inconsistent between species, especially



in sheep production. Therefore, by means of the *in vitro* gas production technique, the effect of grain type and ionophore level on gas production kinetics variables and *in vitro* ruminal fermentation parameters was evaluated, for which three grains were used as substrate with different digestion rates: corn, wheat and sorghum and three levels of ionophore 0, 30 and 60 mg/kg were evaluated. The results were analyzed by a factorial analysis three by three (3 types of grain X 3 levels of ionophore) the means were compared with a Tukey test with a level of significance $p < 0.05$. An effect was found by the type of grain on the variables of gas production, where the use of wheat increased the production of *in vitro* gas, increased the proportion of propionate and reduced the proportion of methane ($p < 0.05$). On the other hand, no effect was found by the level of ionophores on any of the variables evaluated ($p > 0.05$). Finally, we can conclude that the grain type modified the kinetic variables of the gas production and *in vitro* fermentation profile, so it is important to evaluate the type of grain to be used in the rations as well as the use of ionophores to obtain the best answers productive and achieve more efficient animal production.

INTRODUCCIÓN

El uso de ionóforos en la nutrición animal es ampliamente conocido, uno de los más utilizados en corrales de engorda es monensina la cual ha mostrado ser eficiente como tratamiento en los casos de acidosis ruminal, así mismo ha mostrado incrementar la proporción de propionato, cambiando la relación acético: propiónico en el rumen logrando así un metabolismo energético más eficiente, ya que la formación de propionato requiere de hidrogeno uno de los principales sustratos para la metanogénesis (Johnson *et al.*, 2009; Grainger *et al.*, 2010). Sin embargo los efectos sobre el comportamiento productivo y parámetros de fermentación ruminal, han mostrado ser inconsistentes dentro de especies ya que los principales efectos se han observado en bovinos mientras que en ovinos hay mayor inconsistencia en cuantos a los cambios a nivel ruminal y comportamiento productivo (Aguilera *et al.*, 2008; Gonzales *et al.*, 2009; Heydari *et al.*, 2008) un factor que parece tener influencia sobre la respuesta al uso de ionóforos en los sistemas de producción ovino es el tipo de grano utilizado en la ración, tal es el caso de granos con tasa de fermentación rápida como la cebada y granos de destilería ya que estudios donde se utilizaron este tipo de granos se observaron los principales efectos positivos sobre la fermentación ruminal ovina (Aguilera *et al.*, 2008; Heydari *et al.*, 2008). Sin embargo, es importante evaluar el efecto de la tasa de degradación de los granos antes de la formulación de raciones en corrales de engorda, ya que los granos de mayor velocidad de fermentación pueden causar problemas de acidosis ruminal (Monnerat *et al.*, 2013). Por lo que el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del tipo de grano y nivel de monensina sobre las variables de cinética de producción de gas y perfil fermentativo en condiciones *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó la técnica de gas *in vitro* para estimar los efectos del tipo de grano y nivel de monensina, sobre las variables de cinética de la fermentación y perfil fermentativo, para lo cual se utilizaron como sustrato en las incubaciones tres granos con diferente tasa de degradación: maíz, trigo y sorgo, así mismo se evaluaron tres niveles de monensina sódica (0, 30 y 60 mg kg⁻¹).



Los medios se inocularon con líquido ruminal fresco obtenido de tres ovinos machos Suffolk (25 kg, 6 meses) alimentados con una dieta basal con 50% concentrado y 50% ensilado de maíz. Se obtuvieron 100 mL de cada animal donador mediante una sonda esofágica conectada a una bomba de vacío y un matraz Erlenmeyer de 1000 mL. El líquido ruminal fue transportado en contenedores de plástico estériles (100 mL) a 39 °C y el líquido obtenido de los tres animales donadores fue mezclado antes de realizar la incubación.

Técnica de producción de gas *in vitro*: Se registró la producción de gas *in vitro* de acuerdo a la técnica descrita por Menke y Steingas (1987). Se utilizaron frascos de vidrio color ámbar (120 ml) con 0.5 g de sustrato a los cuales se les adicionó la solución mineral reducida y líquido ruminal en una relación 9:1 (v/v), para posteriormente ser incubados en condiciones de anaerobiosis en baño maría a 39°C. La producción de gas fue medida a 0, 6, 12 y 24 horas de incubación utilizando un nanómetro manual. Las incubaciones se realizaron por triplicado

Los datos de volumen de gas y tiempo de incubación fueron usados para obtener los parámetros de la cinética de la fermentación: volumen máximo de gas producido (V_m), fase lag (L) y tasa de producción de gas (s) usando el modelo logístico $V_o = V_m / (1 + \exp(2-4 * s * (t - L)))$ descrito por Pitt *et al.* (1999).

Fermentación ruminal: Durante la incubación de los sustratos se tomaron 1.5 ml del medio de cada frasco a las 12 horas de incubación, el cual se transfirió a tubos de plástico estériles a los cuales se adicionó ácido metafosfórico al 25% relación (2:1) para la determinación de ácidos grasos volátiles. De los cuales se tomó una muestra de 1 mL para después depositarlo en tubos eppendorf, los cuales se centrifugaron durante 5 minutos a 5000 rpm y del sobrenadante se tomaron alícuotas de 0.5 ml para depositarlas en viales de vidrio, para posteriormente analizar utilizando un cromatógrafo de gases marca Perkin Elmer, modelo Clarus 580 equipado con una capilar Elite y detector de ionización de flama (FID). La concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) se midió mediante la técnica descrita por Erwin *et al.* (1961).

Análisis estadístico: Los resultados de las variables de cinética de la fermentación y ácidos grasos volátiles fueron analizados con un diseño factorial 3X3 evaluando el efecto de grano (maíz, trigo, sorgo) y efecto de nivel de monensina (0, 30 y 60 mg/kg). Las medias fueron comparadas con una prueba de Tukey con un nivel de significancia $p < 0.05$, Herrera y García (2010). Los datos se analizaron utilizando el paquete estadístico JMP.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de la cinética de la fermentación (Cuadro 1) mostró que hubo efecto por el tipo de grano ($p < 0.05$) donde el grano de trigo mostró los principales efectos ya que incremento el volumen máximo de gas y la tasa de producción de gas, mientras que por otro lado redujo significativamente la fase lag en comparación con los otros granos ($p < 0.05$). No se encontró efecto por el nivel de ionóforo sobre las variables de cinética evaluadas ($p > 0.05$).



Los resultados obtenidos sobre la producción de gas por el tipo de grano coinciden con lo reportado en la literatura, donde la producción de gas está directamente relacionada con la tasa de degradación de almidón (Chai *et al.*, 2004) sobre esto Lara *et al.* (2009) señalan que los carbohidratos fácilmente fermentables son efectivos para promover el crecimiento microbiano, posiblemente a la mayor concentración de materia orgánica fermentable, lo cual promueve a su vez el crecimiento y la actividad microbiana ocasionando una mayor producción de gas.

En cuanto a los parámetros de fermentación ruminal se encontró efecto por el tipo de grano utilizado sobre el perfil de ácidos grasos volátiles (Cuadro 2), ya que se observó un incremento en la proporción de ácido propiónico y una reducción de ácido acético cuando se utilizó grano de trigo ($p < 0.05$), por otro lado, el uso de sorgo y maíz mostraron un incremento en la relación acético: propiónico ($p < 0.05$).

El incremento de propionato y la reducción de acético cuando se utilizó grano de trigo, están directamente relacionados por el tipo de grano utilizado y no por el nivel de ionóforo utilizado, sobre esto, un estudio realizado por Graham *et al.*, 2013 donde utilizaron granos de destilería en raciones para ovinos se observó el mismo efecto al reducir la proporción de ácido acético ($p < 0.01$) y un incremento en la proporción de ácido propiónico ($p < 0.01$). Así mismo, Zinn y Borques (1993) observaron el mismo efecto sobre los patrones de fermentación cuando utilizaron 33 mg kg^{-1} de monensina con grano de maíz flaqueado, ya que los procesos físicos del grano también favorecen una fermentación ruminal más rápida y eficiente, que cuando se utiliza el grano entero sin ningún proceso físico o químico.

No se encontró ningún efecto sobre las variables de fermentación ruminal por el nivel de ionóforo utilizado ($p > 0.05$). Así mismo, no hubo efecto por el tipo de grano o nivel de ionóforo utilizado ($p > 0.05$) sobre la proporción de dióxido de carbono (CO_2) sin embargo hubo una reducción significativa en la proporción de metano CH_4 cuando se utilizó grano de trigo como sustrato ($p < 0.05$), este efecto se relaciona directamente con los cambios producidos a nivel fermentativo observado en el presente estudio.

Cuadro 1. Cinética de la fermentación con tres granos y tres niveles de monensina.

	Grano			Monensina			EEM	valor-P		
	Maíz	Trigo	Sorgo	0	30	60		G	M	G*M
Vm, mL g ⁻¹	226.43 ^{ba}	230.63 ^a	214.15 ^b	226.03	216.31	228.86	3.53	0.02	0.07	0.06
s, mL g ⁻¹	0.062 ^b	0.069 ^a	0.062 ^b	0.065	0.065	0.064	0.0004	0.0001	0.11	0.56
Lag, h	2.37 ^b	2.04 ^c	2.89 ^a	2.31	2.40	2.58	0.072	0.0001	0.07	0.79

EEM: error estándar de la media, G: grano, M: monensina, Vm: volumen máximo de gas producido, s: tasa de producción de gas.



Cuadro 2. Efecto de nivel de ionóforos y tipo de grano sobre la fermentación ruminal *in vitro*.

AVG, mol/100 ml	Grano			Nivel			EEM	Valor-P		
	Maíz	Trigo	Sorgo	0	30	60		G	M	G*M
Acético	69.32 ^a	65.87 ^b	69.08 ^a	68.03	67.42	68.82	0.60	0.001	0.28	0.90
Propiónico	24.11 ^b	26.85 ^a	23.37 ^b	24.94	25.04	24.36	0.37	0.0001	0.40	0.98
Butírico	6.56 ^a	7.26 ^a	7.54 ^a	7.02	7.52	6.81	0.44	0.29	0.51	0.82
A:P	2.87 ^a	2.46 ^b	2.95 ^a	2.74	2.70	2.84	0.05	0.0001	0.25	0.97
CO ₂ , %	50.53 ^a	50.55 ^a	51.69 ^a	50.78	51.26	50.72	0.44	0.13	0.65	0.82
CH ₄ , %	31.91 ^a	29.85 ^b	32.46 ^a	31.29	31.21	31.72	0.28	0.0001	0.40	0.98

EEM: Error estándar de la media, G: grano, M: monensina, A: P relación acético: propionico, CO₂: dióxido de carbono, CH₄: metano

CONCLUSIONES

Se encontró efecto por el tipo de grano sobre las variables de producción de gas, variables fermentativas y proporción de metano *in vitro*, siendo el grano de trigo el que mostro los principales efectos, por lo que se debe evaluar el tipo de grano a utilizar en la formulación de raciones para ovinos. Por otro lado, no hubo efecto por el nivel de ionóforos sobre las variables evaluadas, por lo que se debe considerar su uso como aditivo si lo que se desea es mejorar los patrones de fermentación ruminal y la producción ovina. Así mismo se deben realizar estudios *in vivo* para evaluar los efectos asociativos entre el tipo de grano y la tasa de digestión en la producción ovina.

LITERATURA CITADA

- Aguilera, S. J., R. Ramírez, C. Arechiga, F. Mendez, M. Lopez, J. Silva, R. Rincon and F. Duran. 2008. Effect of additives in growing lambs fed diets containing wet brewers grains. *Asian Australas. Journal of Animal Science* 21: 1425-1434.
- Chai, W. Z., A. H. Van Gelder and J. W. Cone. 2004 Relationship between gas production and starch degradation in feed samples. *Animal Feed Science and Technology* 114: 195-204.
- Erwin, E. S., G. J. Marco and E. M. Emery. 1961. Volatile fatty acids analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal Dairy Science* 44: 1768-1771.
- González, M. M., J. R. Kawas, C. R. García, M. C. Gonzalez, O. J. Aguirre, G. V. Hernandez, D. H. Fimbres, R.F. Picón and C.D. Lu. 2009. Nutrient intake, digestibility, mastication of Pelibuey lambs fed finish diets with ionophore (monensin or lasolacid) and sodium malate. *Small Ruminant Research* 83: 1-6.
- Graham, A., E. Jonas, A. Tanner, J. Avila, R. Bush and A. Chaves. 2013. Effects of replacing rolled barley grain with wheat dry distillers grains with solubles in Merino sheep rations. *Acta Agriculture Scandinava, Animal Science* 63: 101-110.
- Grainger, C., R. Williams, R. Eckard y M. Hannah. 2010. A high dose of monensina does not reduce methane emissions of dairy cows offered pasture supplemented with grain. *Journal Dairy Science* 93: 5300-5308.



- Herrera, J. G. and C. García. 2010. Bioestadística en Ciencias Veterinarias, Procedimientos de análisis de datos con SAS. Editorial Universidad Complutense de Madrid. Primera Edición.
- Heydari, K. H., N. Dabiri, J. Fayazi and H. Roshanfekar. 2008. Effect of ionophores monensin and lasalocid on performance and carcass characteristics in fattening Arabi Lambs. *Pakistan Journal Nutrition* 7: 81-84.
- Johnson, M. C., A. A. Devine, J. C. Ellis, A. M. Gruden and V. Fellner. 2009. Effects of antibiotics and oil on microbial profiles and fermentation in mixed cultures of ruminal microorganisms. *Journal Dairy Science* 92: 4467-4480.
- Lara, P. E., M. C. Canché, H. Magaña, E. Aguilar and J. R. Sanginés. 2009. Producción de gas in vitro y cinética de degradación de harina de forraje de morera (*Morus alba*) mezclada con maíz. *Rev. Cub. Cienc. Anim.* 43: 273-279.
- Menke, K. H. and H. Steingass. 1987. Schätzung des energetischen Futterwerts aus der in vitro mit Pansenflüssigkeit bestimmten Gasbildung und der chemischen Analyse. II. Regressionsgleichungen. *Übers Tierernährg* 15: 59-94.
- Monnerat, J. P. I. S., P. V. R. Paulino, E. Detmann, S. C. V. Filho, R. D. F. Valadares and M. S. Duarte. 2013. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and monensin on digestion, ruminal parameters, and balance of nitrogenous compounds of beef cattle fed diets with different starch concentrations. *Tropical Animal Health Production* 45: 1251-1257.
- Pitt, R. E., T. L. Cross, A. N. Pell, P. Shofield and P. H. Doane. 1999. Use of *in vitro* gas production models in ruminal kinetics. *Mathematical Biosciences* 159: 145-163.
- Zinn, R. A. and J. L. Borques. 1993. Influence of sodium bicarbonate and monensin on utilization of a fat-supplemented, high-energy growing-finishing diet by feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 71: 18-25.