



## **Ponencia sobre el aporte a la mitigación ambiental mediante el uso de microorganismos para reducir la producción de metano en rumiantes**

Ariana Ramírez Rodríguez

Licenciatura en Biotecnología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

[arsramirezro@gmail.com](mailto:arsramirezro@gmail.com)

DOI: 10.13140/RG.2.2.31274.03529

### **Resumen**

**Sesión 144**

Se muestra una ponencia basada en el artículo “Aporte a la mitigación ambiental mediante el uso de microorganismos para reducir la producción de metano en rumiantes” por Díaz-Monroy (2014) [1].

### **Introducción**

Los rumiantes (cabras, vacas, ovejas, etcétera) son animales con un sistema digestivo muy sorprendente, diferente al que poseen los no rumiantes, ya que este está muy especializado además de que consta de cuatro divisiones capaces de digerir y aprovechar los nutrientes que se encuentran en la materia orgánica de las plantas, su manera de hacerlo consta de fermentaciones a partir de microorganismos. El sistema digestivo de un rumiante empieza cuando éste ingiere el alimento y apenas lo mastica, lo pasa al primer compartimento, llamado rumen; aquí es donde los microorganismos fermentan y degradan la celulosa. A continuación, el material degradado pasa al segundo compartimento llamado retículo, donde también ocurren fermentaciones. Antes de pasar al tercer compartimento (llamado omaso), el alimento debe estar bien rumiado, para eso, las paredes del rumen y del retículo son capaces de mezclar el contenido y facilitar la fermentación y degradación. Cuando esto no sucede de manera correcta, el rumiante es capaz de regresar el alimento a la boca para volver a masticar el alimento y así, facilitar la degradación, a esto se le conoce como rumia. Una vez que el alimento está bien degradado, llega al omaso donde se absorben los ácidos grasos, agua y algunos nutrientes. Finalmente, llega al abomaso donde el material degradado sufre una digestión gracias a enzimas y ácido del rumiante.

Durante la fermentación dentro del rumen, se producen gases como metano y dióxido de carbono que son excretados a través del eructo del animal. Sin embargo, presentan gran problema para el medio ambiente ya que producen el 97 % del metano generado por los animales domésticos [1]. Además, este proceso es el responsable del 18% del efecto invernadero producido en la atmósfera [1]. Para reducir esta problemática se ha demostrado que las prácticas de alimentación de rumiantes que aumentan el consumo y velocidad de digestión o que acorten el tiempo de permanencia de los alimentos en el rumen disminuyen la producción de metano por unidad de forraje digerido [1].

Para eso, levaduras como *Saccharomyce cerevisiae* son capaces de activar la población microbiana ruminal, siendo una posibilidad estudiada para reducir la producción de metano en el rumen. El contenido de fibra influye en la densidad poblacional de metanógenos en el rumen. Gracias a su importante papel dentro de la fermentación ruminal incrementando la densidad de población de bacterias celulolíticas que permiten mejor digestión y a su vez mayor aprovechamiento de nutrientes alimenticios, ya que se encargan de producir celulasas y así hidrolizar la celulosa del alimento del rumiante.

## **Materiales y Métodos**

Se hicieron dos experimentos iguales, pero en lugares diferentes. Uno de ellos fue en el Laboratorio de Microbiología del Rumen del Instituto de Ciencia Animal, en Cuba, y el segundo, en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador. En ambos se aplicó la misma metodología, diseño experimental y análisis estadístico.

Se compararon tres tratamientos:

- C) *Cynodon nlemfuensis* (Pasto estrella) como control
- S) *Cynodon nlemfuensis* + *Saccharomyces cerevisiae*
- L) *Cynodon nlemfuensis* + Levica 25

Los tres tratamientos contenían líquido ruminal de macho adulto canulado con una dieta de forraje de gramínea, sin suplementación y con libre acceso al agua.

El experimento se llevó a cabo bajo condiciones *in vitro* para simular las condiciones dentro del rumen animal, utilizando una técnica que permite determinar la extensión y la cinética de degradación durante la fermentación. Dentro de las técnicas de cultivo utilizadas y para el conteo de microorganismos, se utilizaron tubos roll bajo condiciones anaeróbicas estrictas. La siembra de bacterias viables totales y celulolíticas se hizo mediante la técnica de Hungate, para la cual no se le agrega contenido ruminal clarificado, pero se les agregan los componentes químicos requeridos por esta microbiota. De la misma manera se realizó el conteo para las bacterias metanogénicas, sin embargo, se utilizó una mezcla de hidrógeno y dióxido de carbono (60:40). Los protozoos se preservaron en formol al 10% en una dilución 1:1 (v/v). Las muestras preservadas se guardaron en refrigerador a 4°C y se contaron posteriormente al microscopio óptico en cámara de Neubauer. Para ello, los protozoos se tiñeron con una solución de violeta de genciana al 0,01% en ácido acético glacial al 1%.

Para la preparación de la muestra de pasto, se utilizó *Cynodon nlemfuensis*, o mejor conocido como pasto estrella, obtenido de un área sin pastorear del Instituto de Ciencia Animal. Se recolectaron las hojas con sus pecíolos para asemejar el bocado animal. Posteriormente la muestra se secó y se molió para determinar su composición química según AOAC (1995).

En la obtención del preparado microbiano de *Saccharomyces cerevisiae* y Levica 25, se prepararon preinóculos para cada uno de los tratamientos, por lo que se tomaron varias asas de cultivos en cuña de ambas levaduras con 24 horas de crecimiento y se disolvieron en 10 mL de

caldo extracto de malta. Se incubaron a 30°C durante 16 horas. El preparado que se utilizó en el experimento se obtuvo después de inocular los 10 mL anteriormente obtenidos en 100 mL de caldo extracto de malta, incubando a 300 °C por 16 horas. Se obtuvieron dos preparados microbianos, los que corresponden a levaduras con una concentración inicial de células de  $1 \times 10^7$  cel.mL<sup>-1</sup> (1). La formulación del material de fermentación para 100 mL fue: líquido ruminal 20 mL, solución amortiguadora 60 mL y preparado con levaduras 20 mL, a este líquido se añadió 1 g de material vegetal (pasto estrella triturado y seco), se evaluaron los diferentes indicadores fermentativos y microbiológicos a las 8, 12 y 24 h de fermentación [1].

## Resultados y discusión

La evaluación de la metanogénesis ruminal *in vitro* por efecto de preparados microbianos con levaduras viables, donde no se registraron diferencias estadísticas en el pH dentro de los horarios de fermentación. Sin embargo, comparando Levica 25 y el tratamiento control, se pueden ver diferencias de pH del líquido ruminal, donde Levica 25 tuvo un pH más bajo a comparación de la otra levadura y el tratamiento control. *Saccharomyces cerevisiae*, tuvo un pH mayor, y el tratamiento control tuvo un pH alcalino. La importancia de esto es que, de manera fisiológica, los rumiantes tienen un pH alcalino en el rumen, generalmente esta entre 5.8 y 7. A medida que este pH baja, van desapareciendo poblaciones microbianas, (primero bacterias, después levaduras, y después hongos y protozoos.

Producción de gas total (ml.g-1): Levica 25 tiene mayor diferencia a comparación de *Saccharomyces cerevisiae* en las 24 horas de fermentación, seguida de las 12 y 8 horas, de la disminución significativa de producción de gas total dentro del rumen.

Producción de gas metano (µl): De igual manera, podemos decir que Levica 25 tuvo mayor diferencia significativa en cuanto a la disminución de la producción de metano dentro del rumen, mostrándose más significativa dentro de las 24 horas de fermentación. Según Hungate, los metanógenos que viven en el interior o adheridos a la superficie de los protozoos ciliados del rumen son responsables de más del 37% de las emisiones de metano, donde estos utilizan diferentes sustratos, pero los principales son el  $H_2$  y el  $CO_2$ . La eliminación de estos gases, principalmente del  $H_2$ , garantiza la estabilidad del pH, lo que favorece una óptima fermentación ruminal [1].

Efectos de los preparados microbianos con levaduras viables en la población microbiana ruminal *in vitro*: La Población de bacterias viables totales con Levica 25, mostró la menor población de bacterias viables totales a las 24 horas, a comparación de la otra Levadura y el tratamiento control, encontrándose mayor densidad en el tratamiento control, seguido de *Saccharomyces cerevisiae*.

Población de bacterias celulolíticas: Levica 25 mostró mayor producción de bacterias celulolíticas a las 24 horas de fermentación, a comparación de la otra levadura y el tratamiento

control. Donde se confirma que la levadura LEVICA 25 resultó ser la más promisoría para su empleo como activadora de la fermentación ruminal celulolítica.

Población de bacterias metanogénicas: Con Levica 25, se mostró una disminución significativa en la densidad de bacterias metanogénicas, siendo mayor a las 8 horas y menor a las 24 horas de fermentación.

Población de protozoos: Dentro del tratamiento control se observa una mayor densidad de protozoos a las 24 horas, en el tratamiento con Levica 25, se observa que a las 8 horas de fermentación una mayor densidad de protozoos, disminuyendo a las 12 y 24 horas.

En el caso de *Saccharomyces cerevisiae*, en Ecuador, se determinó que la densidad de protozoarios decrece en relación al incremento del tiempo de fermentación; así se ha determinado una disminución en la población de protozoarios a partir de la hora 8 decreciendo progresivamente hasta las horas 12 y 24 de fermentación.

## **Conclusión**

Finalmente, Levica 25 demostró ser la levadura que reduce el contenido de gas y metano producido al final de la fermentación ruminal, lo que indica una menor densidad de población de bacterias metanogénicas y protozoos, lo que favorece el crecimiento de bacterias celulolíticas dentro del rumen. Así mismo, se recomienda utilizar preparados microbianos que contengan *Saccharomyces cerevisiae* y Levica 25 para una óptima digestión y aprovechamiento de nutrientes, así como seguir realizando investigaciones acerca de la metanogénesis ruminal.

<https://sites.google.com/view/apcmac/conferencias-y-m%C3%B3dulos?authuser=0#h.s27ib7hwj5o5>

## **Referencia**

1. Díaz-monroy BL. Efecto KP XKVTQ de preparados con levaduras sobre la producción de metano ruminal In vitro effect of yeast preparations on ruminal methane production. 2014;11:39–47.