

DEGRADACIÓN DE MATERIA SECA *In vitro* A DIFERENTES TIEMPOS DE FERMENTACIÓN DE UN BLOQUE NUTRICIONAL CON VAINA DE ALGARROBO

DRY MATTER DEGRADATION *In vitro* AT DIFFERENT FERMENTATION TIMES OF A NUTRITIONAL BLOCK WITH CAROB PODS

Brenda K. Morales-Campos^{1*}; Paulino Sánchez-Santillán²; Nicolas Torres-Salado²; Luis Alaniz-Gutiérrez²; Luis A. Saavedra-Jiménez²; Liliana Aguilar-Marcelino³

¹Programa de Maestría en Producción de Bovinos en el Trópico-UAGro, 41940, Cuajinicuilapa, Guerrero, México. ²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2-UAGro, 41940, Cuajinicuilapa, Guerrero, México. ³INIFAP-CENID-SAI, 62574, Jiutepec, Morelos, México.

*Autor responsable: 15379627@uagro.mx

Recibido: 27 febrero 2022, aceptado 13 abril 2022

Artículo científico

RESUMEN

Los bloques nutricionales (BN) contienen ingredientes energéticos, proteicos, minerales, aglutinantes y fibrosos y se pueden incluir recursos locales como la vaina de algarrobo (*Samanea saman*) que contiene 16% de proteína cruda. El objetivo fue evaluar la degradación de materia seca (DMS), conteo total de bacterias y pH del medio de cultivo a las 24, 48 y 72 h de fermentación *in vitro* de un bloque nutricional elaborado con 20% melaza, 5% urea, 14% maíz molido, 35% vaina de algarrobo, 10% pasta de soya, 3% sal común, 3% sal mineral y 10% cal. Las variables *in vitro* se evaluaron en tubos (18x150 mm) con 0.1 g de bloque, 8 mL de medio de cultivo y 2 mL de fluido ruminal fresco. Los tubos se incubaron a 39 °C por 72 h. El diseño experimental fue un completamente al azar. La DMS a las 24 h fue 42.9% y 53.13% a las 48 h, por lo que se presentó una tasa de degradación de 23.64%. El pH de los tiempos de fermentación oscilo entre 6.49 (24 h) y 6.66 (72 h), sin embargo, se mantuvieron dentro del rango que no altera la actividad de las bacterias ruminantes; mismo que se reflejó en un conteo de bacterias totales, que promedio 3.6×10^9 células/mL en los tiempos de fermentación ($p > 0.05$). En conclusión, la elaboración de bloques nutricionales que contienen 35% de vaina de algarrobo son una alternativa de suplementación de rumiantes en pastoreo en épocas de estiaje.

Palabras clave: Bloques nutricionales, Vainas, Degradación, Algarrobo, *S. saman*

ABSTRACT

The nutrient blocks (NB) contain energy, protein, mineral, binders and fibrous ingredients and can include local resources such as carob pods (*Samanea saman*) containing 16% crude protein. The objective was to evaluate the dry matter degradation (DMS), total bacterial count and pH of the culture medium at 24, 48 and 72 h of *in vitro*

fermentation of a nutritional block made with 20% molasses, 5% urea, 14% ground corn, 35% carob pod, 10% soybean paste, 3% common salt, 3% mineral salt and 10% lime. *In vitro* variables were evaluated in tubes (18x150 mm) with 0.1 g of block, 8 mL of culture medium and 2 mL of fresh rumen fluid. The tubes were incubated at 39 °C for 72 h. The experimental design was completely randomized. The DMS at 24 h was 42.9% and 53.13% at 48 h, giving a degradation rate of 23.64%. The pH of the fermentation times ranged between 6.49 (24 h) and 6.66 (72 h), however, they remained within the range that does not alter the activity of ruminal bacteria, which was reflected in a total bacterial count that averaged 3.6×10^9 cells/mL in the fermentation times ($p > 0.05$). In conclusion, the elaboration of nutritional blocks containing 35% carob pods is an alternative for supplementation of grazing ruminants during the dry season.

Key words: Nutrient blocks, Degradation, Carob pods, Carob. *S. saman*

INTRODUCCIÓN

La producción de rumiantes en el trópico mexicano se basa en pastoreo. Los pastos se caracterizan por presentar una disminución en proteína, aumento de carbohidratos estructurales y disminución de la digestibilidad conforme alcanzan su madurez fisiológica (Lagunes et al., 2019). Así mismo, en la época de estiaje, la producción de forraje disminuye y su valor nutricional es bajo, ya que contienen 70% de pared celular y hasta 7% de proteína cruda (PC; Hernández-Morales et al., 2018). Las vainas de leguminosas arbóreas son una estrategia de alimentación para rumiantes porque representan una fuente de nutrientes durante la época seca en las regiones tropicales (Delgado et al., 2014). La poca disponibilidad de forrajes para la producción animal se puede disminuir con la suplementación de fuentes alternativas provenientes de recursos regionales (Soriano et al., 2022).

La vaina de algarrobo (*Samanea saman*) tiene potencial para su uso en suplementos para los rumiantes (Milián et al., 2017); porque contienen 16% de PC, 34% fibra detergente neutro (FDN), 25% fibra detergente ácido (FDA) y 4% cenizas (Ce) (Hernández-Morales et al., 2018). Los bloques nutricionales (BN) son una estrategia de suplementación en rumiantes. El BN tiene la característica de ser sólido y compacto; su consumo se regula por los ingredientes y debido a su característica física facilita su manejo (Sánchez-Santillán et al., 2019). Estos contienen proteína, energía y minerales que ayudan a los microorganismos del rumen a mejorar la digestibilidad de la fibra (Del valle, 2019). El objetivo fue evaluar la degradación de materia seca (DMS), conteo total de bacterias y pH del medio de cultivo a las 24, 48 y 72 h de fermentación *in vitro* de un bloque nutricional que contiene 35% de vaina de algarrobo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio

El estudio se realizó en el laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2 de la Universidad Autónoma de Guerrero; el cual se ubica en Cuajinicuilapa, Guerrero (16° 08" N y 98° 23" O).

Bloques nutricionales (BN)

La vaina madura de algarrobo (*Samanea saman*) se obtuvo de árboles localizados en la localidad de Cuajinicuilapa, Guerrero. Las vainas se molieron en un molino de martillo (M.A.GRO TR-3500). El BN se elaboró con 20% melaza, 5% urea, 14% maíz molido, 35% vaina de algarrobo, 10% pasta de soya, 3% sal común, 3% sal mineral y 10% cal. Para su preparación, primero se mezclaron primero los ingredientes sólidos (excepto la cal); por separado se disolvió la urea en la melaza, se mezclaron los ingredientes y agregó la cal. Los BN se hicieron con un molde de plástico para compactarlo; este se secó al sol para obtener una consistencia firme y dura por 72 h.

Ensayo *in vitro*

El medio de cultivo contenía: 5% de solución mineral I [6 g K₂HPO₄ (J.T. Baker) en 1000 mL de H₂O destilada], 5% de solución mineral II [6 g KH₂PO₄ (J.T. Baker) + 6 g (NH₄)₂SO₄ (Meyer) + 12 g NaCl (Meyer) + 2.45 g MgSO₄ (Meyer) + 1.6 g CaCl₂·2H₂O (Meyer) en 1000 mL de H₂O destilada], 5% de solución buffer [80 g Na₂CO₃ (Meyer) en 1000 mL de H₂O destilada], 4% de solución reductora [3.125 g L-cisteína (Meyer), ajusta a pH 10 con NaOH (2N; Meyer) + 3.125 g Na₂S·9H₂O (Meyer) + 0.1 mL de resazurina 0.1% en 250 mL de H₂O destilada, todo bajo flujo de CO₂ y 250 °C de temperatura], 0.1% de resazurina a 0.1% (Sigma-Aldrich), 50.9% de agua destilada y 30% de líquido ruminal clarificado (líquido ruminal fresco se esterilizó a 121°C, 15 PSI y 15 min; posteriormente se filtró en bolsas ANKOM y se recuperó lo filtrado) según Cañaveral-Martínez et al. (2020). El fluido ruminal fresco se obtuvo de dos bovinos con cánula ruminal alimentados con pasto pangola y ensilado de mango; estos se manejaron de acuerdo con el reglamento interno de bioética y bienestar animal de la UAGro con fundamento en las normas oficiales NOM-062-ZOO-1999.

En tubos ensaye (18x150 mm) se agregó 0.1 g de bloque a peso constante y se esterilizó a 121°C, 15 PSI y 15 min. Posteriormente, a cada tubo se agregaron 8 mL de medio de cultivo estéril, bajo flujo continuo de CO₂, para mantener condiciones de anaerobiosis. La inoculación se realizó con 2 mL de fluido ruminal fresco, bajo flujo continuo de CO₂. Los tubos se incubaron a 39 °C por 72 h.

A las 24, 48 y 72 h de incubación se midió pH del medio, conteo de bacterias totales y degradación de materia seca (DMS). El pH (10 muestras independientes por tiempo de incubación) se determinó con un potenciómetro (Hanna HI2211, Italia; calibración pH 7 y 4). El conteo de bacterias se realizó con una micropipeta (Accumax) para extraer

1 mL del medio contenido en el tubo y colocarlo en un tubo de ensaye con 0.25 mL de formaldehido al 10% (Sigma-Aldrich). La cantidad de bacterias totales (5 muestras independientes por tiempo de incubación) se calculó realizando el conteo directo en una cámara Petroff Hausser (Hausser #39000, Electron Microscopy Sciences, USA), con un área de 0.0025 mm² y profundidad de 0.02 mm. Para el recuento se usó un microscopio (VELAB™ VE-BC3, México) a una magnificación de 1000 (Sánchez-Santillán *et al.*, 2016). La DMS se hizo al filtrar en papel filtro a peso constante (10 muestras independientes por tiempo de incubación). Los papeles filtro con el material residual se secaron a 60 °C por 24 h en una estufa (RIOSSA HCF-41, México). La DMS se calculó por diferencias de peso.

Análisis estadístico

El diseño experimental fue un diseño completamente al azar; para el análisis estadístico se usó software R (R Core Team, 2021) y el paquete Agricolae (Mendiburu, 2021). La diferencia de medias fue con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La DMS mostró que de las 24 a 48 h, se presentó una tasa de 23.64%; mientras que de las 48 a 72 h sólo fue de 2.12% (Cuadro 1). Esto indica que en las primeras 24 h se degradaron los ingredientes del bloque con poca fibra como la pasta soya, grano de maíz molido, melaza y contenido celular de la vaina de algarrobo. Sin embargo, de las 24 h a 48 h se degradaron los componentes de la pared celular de la vaina que no estaban adheridos a lignina; esto porque de las 24 a 48 h se fermentan los carbohidratos estructurales que no están completamente adheridos a la lignina (Texta *et al.*, 2019). Además, al usar vaina madura, se presenta el proceso de lignificación, lo cual reduce la capacidad de las bacterias de adherirse y digerir la pared (Hoffman *et al.*, 2007). Valores superiores (Cuadro 1), fueron reportados por Sánchez-Santillán *et al.* (2019) en BN elaborados con 30% de melaza de caña, 10% urea, 5% sal, 3% mezcla mineral, 10% cemento, 5% heno de pasto pangola, 20% pasta de coco y 17% de mazorca de maíz molido.

Cuadro 1. Degradación de materia seca, pH y bacterias totales de un bloque nutricional que contiene vaina de algarrobo.

Tiempo	DMS (%)	pH	Bacterias (células mL ⁻¹)
24	42.97 ^b	6.49 ^b	3.83X10 ^{9a}
48	53.13 ^a	6.61 ^a	3.52X10 ^{9a}
72	54.26 ^a	6.66 ^a	3.49X10 ^{9a}

^{a,b}Medias por columna con diferente literal indican diferencias ($p<0.05$); DMS: porcentaje de degradación de materia seca.

El pH osciló entre 6.49 y 6.66 (72 h); valores que se encuentran dentro del rango de pH ruminal, el cuál va de 5.5 a 6.9 (Choudhury *et al.*, 2015), ya que se usó una solución buffer para mantener el rango de pH; mientras que la población bacteriana estuvo en un rango de 3.49 a 3.83×10^9 células mL⁻¹; valores dentro del rango de la población de bacterias en rumen, que va de 10^{9-11} células mL⁻¹ de fluido ruminal (Nagaraja, 2016). Valores superiores de pH y similares en población de bacterias (Cuadro 1), fueron reportados en una prueba *in vivo* usando ovinos alimentados con un bloque nutricional que contenía 38% de melaza, 10% de urea, 8% de pasta de soya, 5% de sal, 3% de mezcla mineral, 10% cal y 26% de heno pasto pangola (Marchán, 2018).

CONCLUSIÓN

Se puede usar la vaina de algarrobo como un ingrediente para la elaboración de bloques nutricionales que sirvan como una alternativa de suplementación de rumiantes en pastoreo en épocas de estiaje.

AGRADECIMIENTOS

Al cuerpo académico UAGRO-CA-183 “Producción Sustentable de Rumiantes en el Trópico”.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cañaveral-Martínez UR; Sánchez-Santillán P; Torres-Salado N; Sánchez-Hernández D; Herrera-Pérez J; Rojas-García AR (2020). Características de calidad, bromatológicas y fermentativas *in vitro* de ensilado de mango maduro. Revista Mexicana de Agroecosistemas, 8(1): 11-13.
- Choudhury PK; Salem AZM; Jena R; Kumar S; Singh R; Puniya AK (2015). Rumen Microbiology: An Overview. En Puniya AK; Singh R; Kamra DN (Editor.), Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution Springer. India. pp. 3-16.
- Del valle MRJ (2019). Que es un bloque multi-nutricionales. Elaboración de bloques multinutricionales como alternativa alimenticia para bovinos en épocas de sequía. Sennova, 15-17.
- Delgado DC; Hera R; Cairo J; Orta Y (2014). *Samanea saman*, árbol multipropósito con potencialidades como alimento alternativo para animales de interés productivo. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 48(3): 205-212.
- Hernández-Morales J; Sánchez-Santillán P; Torres-Salado N; Herrera-Pérez J; Rojas-García AR; Reyes-Vázquez I; Mendoza-Núñez MA (2018). Composición química y degradaciones *in vitro* de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, 9(1): 105-120.

- Hoffman P; Combs D; Contreras GFE (2007). Uso de la digestibilidad del FDN en la Formulación de Raciones. *Focus on Forage*, 6(3): 5.
- Lagunes RSA; Guerrero-Rodríguez JD; Hernández-Vélez JO; Ramírez-González JJM; García-Bonilla DV; Alatorre-Hernández A (2019). Rendimiento de materia seca y valor nutritivo de cuatro leguminosas herbáceas en la zona tropical de Hueytamalco, Puebla, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 10(4): 1042-1053.
- Marchán-Martínez V (2018). Comportamiento productivo, variables ruminales y digestibilidad de corderos complementados con bloques nutricionales elaborados con aceite de coco y/o vaina de Samanea saman. Tesis Maestría. Universidad Autónoma de Guerrero, Guerrero. <http://ri.uagro.mx:8081/viewer/index.php?code=1625056000>
- Mendiburu F. (2021). *agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*. R package version 1.3-5. <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>
- Milián DJC; Iglesias MO; Valdés HH (2017). Caracterización fitoquímica de *Samanea Saman* (Jacq.) Merr. (Algarrobo). *Revista Cubana de Ciencias Forestales*, 5(1): 49-61.
- Nagaraja TG (2016). *Microbiology of the Rumen*. En Millen DD; Arrigoni MDB; Pacheco RDL (Editor), *Rumenology*. Springer. pp. 39-61.
- NOM-062-ZOO-1999. Norma Oficial Mexicana, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria.
- R Core Team (2021). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Sánchez-Santillán P; Cobos-Peralta MA (2016). Producción *in vitro* de ácidos grasos volátiles de bacterias celulolíticas reactivadas y bacterias ruminales totales en sustratos celulósicos. *Agrociencia*, 50: 565-574.
- Sánchez-Santillán P; Torres-Salado N; Rojas-García AR; Bottini-Luzardo MB; Maldonado-Peralta M Á; Escobar-España JC; Reyes-Vázquez I; Manuel-Luviano D; Herrera-Pérez J (2019). Kinetics of gas production and *in vitro* fermentative characteristics of the substitution of cane molasses for mango pulp in the elaboration of nutritional blocks. *Agrociencia*, 53(7): 957-967.
- Soriano RR; Arias ML; Rivera SL; Rodríguez LG (2022). Evaluación nutritiva de bloques multinutricionales elaborados con frutos de *Stenocereus griseus* y *S. stellatus*, en sustitución de melaza de caña de azúcar. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 5(1): 36-42.
- Texta JN Sánchez-Santillán P; Sánchez DH; Salado NT; Galván MC; Pérez JH; Rojas-García RA (2019). Use of disaccharides and activated carbon to preserve cellulolytic ruminal bacterial consortiums lyophilized. *Revista MVZ Córdoba*, 24(3): 7305-7313.