

**Determinación de los parámetros de la
fermentación ruminal *in vitro* de tres
fracciones del cactus *Opuntia stricta***

Adriana Nicole Palicio Pérez Carreño

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2017

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Determinación de los parámetros de la fermentación ruminal *in vitro* de tres fracciones del cactus *Opuntia stricta*

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera Agrónoma en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Adriana Nicole Palicio Pérez Carreño

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2017

Determinación de los parámetros de la fermentación ruminal *in vitro* de tres fracciones del cactus *Opuntia stricta*

Adriana Nicole Palicio Pérez Carreño

Resumen. *Opuntia stricta* (Raketamena) es la especie de cactus más invasiva del sur de Madagascar. Debido a su abundancia la población malagasy optó por utilizar esta planta como fuente alternativa de alimento para bovinos. Sin embargo, existe poca información en relación a los valores nutricionales que esta pueda brindar. El objetivo del estudio realizado en el laboratorio NFREC de la Universidad de Florida fue evaluar los parámetros de la fermentación ruminal *in vitro* del cactus como fuente forrajera para ganado bovino. Las variables analizadas fueron: producción de gas, producción de metano (CH₄), nitrógeno amoniacal (NH₃-N), pH final y ácidos grasos volátiles (AGV). Se realizaron incubaciones de los cladodios, tallos y raíces. Los resultados se analizaron con la prueba MIX en un modelo de bloques completos al azar con tres medidas repetidas en el tiempo. Las fracciones del cactus mostraron diferencias ($P \leq 0.05$) en la producción de metano y volumen de gas, siendo los cladodios los de mayor producción (14.66 mg/g MO incubada y 130.95 mL/g MO incubada, respectivamente). Las concentraciones promedio de NH₃-N de las incubaciones fueron de 12.87 mM ($P > 0.05$). Las raíces, tallos y cladodios tuvieron un pH final de 6.52, 6.45 y 6.32, respectivamente, siendo diferentes entre sí ($P \leq 0.05$). Los cladodios tuvieron mejor producción total de AGV (106.67 mM). Los resultados demuestran que *Opuntia stricta* puede ser una alternativa viable para alimentación de bovinos en zonas áridas y semiáridas. Se recomienda realizar estudios *in vivo* para evaluar rendimientos y conversión alimenticia brindando alimentación a base del Raketamena.

Palabras clave: Alimentación, alternativa, cladodios, raíces, tallos, zonas áridas.

Abstract. *Opuntia stricta* (Raketamena) is the most invasive cactus species in southern Madagascar. Due to its abundance the Malagasy population opted to use this plant as an alternative source of food for cattle. However, there is little information related to the nutritional values it can provide. The objective of the study was to evaluate the parameters of *in vitro* ruminal fermentation of the cactus as a forage source for cattle in the NFREC laboratory of the University of Florida. The variables analyzed were gas production, methane production (CH₄), ammoniacal nitrogen (NH₃-N), final pH and volatile fatty acids (VFA). Incubations of the cladodes, stems and roots were performed. The results were analyzed with the MIX test in a randomized complete block model with three measures repeated over time. The cactus fractions showed significant differences ($P \leq 0.05$) in methane production and gas volume; with cladodes having the highest production, (14.66 mg / g MO incubated and 130.95 mL/g incubated MO, respectively). The average concentrations of NH₃-N from the incubations were 12.87 mM ($P > 0.05$). Roots, stems and cladodes had a final pH of 6.52, 6.45 and 6.32, respectively, being different from each other ($P \leq 0.05$). Cladodes had better total AGV production (106.67 mM). The results show that *Opuntia stricta* can be a viable alternative for cattle feeding in arid and semi-arid zones. *In vivo* studies are recommended to evaluate performance and feed conversion by providing Raketamena-based nutrition.

Key words: Alternative, arid region, cladodes, feed, mother cladodes, roots.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. METODOLOGÍA.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
4. CONCLUSIONES.....	12
5. RECOMENDACIONES.....	13
6. LITERATURA CITADA.....	14

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadros	Página
1. Concentraciones de las muestras de estándares de metano y tiempo de retención en el equipo Agilent 7820 A GC system.	4
2. Medias de la producción de volumen de gas y metano de los tres tratamientos y resultados del análisis de varianza.....	6
3. Medias de medición de nitrógeno amoniacal y pH en los tres diferentes tratamientos del cactus <i>Opuntia stricta</i>	7
4. Media de los ácidos grasos volátiles (AGV) producidos por tres tratamientos	9

1. INTRODUCCIÓN

El crecimiento y la transformación del sector ganadero en la economía agrícola ofrecen oportunidades para el desarrollo, la reducción de la pobreza y mejorar la seguridad alimentaria. Sin embargo, la rapidez de los cambios puede marginalizar a los pequeños agricultores, los riesgos sistémicos para los recursos naturales y la salud humana deben ser abordados para garantizar la sostenibilidad del sector ganadero (FAO 2014).

Datos registrados hasta 1993 indican que el 76% de las familias de la nación de Madagascar, África, participan en sistemas de producción ganadera (región con mayor porcentaje de África), el cual es proveedor del 18% de los ingresos familiares. La posesión de ganado bovino se considera un activo de gran valor que facilita a las familias adquirir créditos para expansión de producción comparado con familias que no cuentan con dicho activo. Además, este recurso favorece el intercambio entre bienes y adquisición de alimentos, mejorando las condiciones de vida de la población en Madagascar (FAO 2012).

La fuente de alimentos para la alimentación animal en Madagascar puede variar por la localidad de cada región, ya que estas se enfrentan a diversas condiciones climáticas que determinan la disponibilidad de recursos naturales para la producción de cultivos. Las regiones con mejores condiciones climáticas y adaptación de cultivos son en las zonas altas, al Este, Norte y Medio Oeste. En dichas zonas se han introducido diversidad de variedades de pastos y leguminosas para cubrir la demanda alimenticia en los sistemas de producción animal. Sin embargo, otra cantidad de la producción de carne de cebu por pequeños campesinos se ubica en la región sur de la isla, la cual se encuentra bajo condiciones semiáridas y áridas, con una precipitación anual menor a 380 mm por año. Dada estas condiciones climáticas, los campesinos cuentan con limitados recursos para alimentación animal y se ven obligados a optar por insumos disponibles en la zona (FAO 2012).

En Madagascar se introdujeron diversas especies de cactus en la parte sur de la isla (zonas áridas y semiáridas) que afectan la economía del país. El cactus Raketamena (*Opuntia stricta*) introducida en Lavanono y alrededores es el más invasivo de los cactus, debido a su alta capacidad de reproducción y crecimiento, lo que ocasiona grandes pérdidas en áreas de producción de cultivos y pastoreo. Por estas razones, los campesinos empezaron a utilizarlo como una forma alternativa de alimentación para ganado en los meses de sequía. Esta planta posee espinas que ocasionan severas infecciones en las personas y animales. Los campesinos han intentado diversas maneras para que esta característica no sea limitante para su consumo. La práctica más común consiste en cortar el cactus y quemarlo para ablandar la espina, que consecuentemente será proporcionado a los animales (Larsson 2004).

La producción de biomasa y composición química de *Opuntia stricta* se concentra en cuatro fracciones de la planta (raíces, frutas, cladodios y tallos). Los tallos representan 21% de la biomasa total, los cladodios y frutas el 26% cada una y las raíces 27%. Químicamente los tallos y raíces demuestran ser una fuente de fibra potencial para dietas para bovino, ya que conforman 56.6 y 70.2%, respectivamente de la fibra neutro detergente y 34.8 y 45.7% de fibra ácido detergente del cactus. Sin embargo, la proporción de proteína cruda es muy bajo en ambos (4.1 y 4.4%, respectivamente). En cuanto a la digestibilidad, los tallos y cladodios tienen mayor digestibilidad que las raíces o frutos (Dubeux et al. 2016).

No existe mucha información respecto a los valores nutricionales, beneficios o el efecto sobre la alimentación de ganado con Raketamena, por esta razón los objetivos del estudio fueron:

- Evaluar los parámetros de la fermentación ruminal *in vitro* del cactus *Opuntia stricta* como fuente forrajera para ganado bovino determinando las siguientes variables: volumen de gas, producción de metano, concentración de nitrógeno amoniacal, pH final y producción de ácidos grasos volátiles.
- Determinar la fracción de la planta que presente mejores resultados de los productos de la fermentación ruminal.

2. METODOLOGÍA

Preparación de la muestra.

Las muestras del cactus *Opuntia stricta* se obtuvieron de la Fundación DryGrow, las cuales se remitieron de Madagascar previamente secadas a 65 °C durante 72 h. Posteriormente se molieron en un molino a un tamaño de partícula de 2 mm.

Se rotularon 28 botellas de vidrio de 100 mL, luego se pasaron 0.700 g aproximadamente de sustrato del cactus *Opuntia stricta* para las subrepeticiones A y B de cada una de los tratamientos.

Preparación del buffer McDougall.

Para las incubaciones, la relación utilizada entre buffer y fluido ruminal fue de 3:1, por lo tanto, en cada repetición se preparó 2250 mL y 750 mL, respectivamente. Se utilizó el protocolo del laboratorio de NFREC de la Universidad de Florida, Estados Unidos (McDougall 1948).

Recolección de fluido ruminal.

El fluido ruminal se recolectó en el mismo momento que se hicieron las incubaciones. Para ello se utilizaron termos con agua a 38-40 °C, dos frascos de vidrio de 1000 mL con tapas, ocho trozos de gasa quirúrgica de 50 cm², un embudo y dos recipientes cuadrados. En este ensayo se utilizaron dos novillos canulados alimentados únicamente con forraje para la extracción del fluido ruminal. Se extrajo contenido dietario dentro del rumen que posteriormente se exprimió y coló con un embudo y las grasas quirúrgicas para separar cualquier partícula del contenido dietario y obtener únicamente el fluido ruminal.

Incubaciones.

Antes de iniciar las incubaciones se calentó el buffer McDougall hasta que alcanzó una temperatura de 39 °C y se inyectó CO₂ hasta lograr un pH de 6.8-7. Se mezcló el buffer y el fluido ruminal en relación 3:1 con un agitador magnético. Una vez se mezcló totalmente, con ayuda de una jeringa se extrajo anaeróticamente 50 mL de la solución los cuales se inyectaron inmediatamente en las botellas de vidrio y se cerraron con tapones de plástico y sellos de aluminio. Todas las botellas se incubaron en una incubadora durante 48 horas a 39 °C y a una agitación de 70 rpm. Finalizadas las 48 horas de incubación, las botellas se colocaron inmediatamente en hielo durante 20 min para detener la fermentación. Luego se dejó reposar las muestras hasta alcanzar una temperatura ambiente para poder tomar los datos de metano, pH, AGV, nitrógeno amoniacal y sólidos totales.

Toma de datos de presión de gas.

Las tomas de datos se hicieron a las 3, 6, 9, 12, 18 y 48 horas con un manómetro.

Análisis de metano (CH₄).

Primero se realizó y analizó las muestras estándares con cinco concentraciones de CH₄ para calibrar el sistema GV con el objetivo de tener las muestras dentro de un rango establecido e identificar cualquier anomalía. Posteriormente se continuó con las muestras del ensayo. Para el primer estándar se introdujo 15 mL de estándar de metano comercial de la marca Gasco[®] (a una concentración del 99.999% de metano) y 45 mL de aire del ambiente en una jeringa de 60 mL. Para los siguientes estándares se diluyó el primer estándar con aire ambiental hasta que se obtuvo concentraciones de 1.562%. Las muestras fueron analizadas en un sistema Agilent 7820 A GC system[®].

Cuadro 1. Concentraciones de las muestras de estándares de metano y tiempo de retención en el equipo Agilent 7820 A GC system[®].

Estándar de CH₄	Concentración (%)	Tiempo de retención (min.)
1	25.000	2.07
2	12.500	2.07
3	6.250	2.07
4	3.125	2.07
5	1.562	2.07

Posteriormente se continuó con las muestras del estudio. Los datos obtenidos están en área del pico que se presentó en el sistema GC, los cuales se corrigieron en base a la cantidad de gas producido por las 48 horas de incubación y por gramo de materia orgánica incubada.

Toma de pH final.

Al finalizar la toma de datos de metano, se destaparon las botellas y con ayuda de un agitador magnético se uniformizó la muestra y se tomó la lectura de pH por medio de un potenciómetro.

Análisis de ácidos grasos volátiles (AGV).

Para preparación de las muestras de AGV se tomaron 3 mL de medio (muestra incubada) y 30 µL de ácido sulfúrico al 20%. Se dejaron reposar y luego se congelaron a -30 °C hasta el día de analizar las muestras. Al momento del análisis de AGV, primero se descongelaron las muestras hasta que alcanzaron una temperatura ambiente. Paralelo a este procedimiento se realizaron las muestras estándares usando el protocolo sobre Determinación de AGV en soluciones a base de agua usando extracto de ethyl acetato del laboratorio de NFREC de la Universidad de Florida y como indicador ácido crotónico, para cuantificar los diferentes

AGV. Los análisis se elaboraron por medio del equipo Agilent 7820 A GC system® (Ruiz-Moreno et al. 2015).

Análisis de Nitrógeno Amoniacal (NH₃-N).

Para la preparación de las muestras de NH₃-N se tomó 3 mL de medio y 30 µl de ácido sulfúrico al 20%. Se dejó reposar luego se congeló a -30 °C hasta el día de toma de muestra. Se debe preparar primero las concentraciones estándares de nitrógeno amoniacal para luego proseguir con las muestras del ensayo. Para ello se utilizó el protocolo de Análisis de concentración de NH₃-N usando la metodología de hipoclorito fenólico del laboratorio de NFREC (Chaney y Marbach 1962).

Diseño experimental.

Para analizar las variables anteriormente mencionadas se realizó un diseño de bloques completos al azar (BCA) con tres repeticiones separadas en el tiempo y tres tratamientos (cladodios, tallos y raíz). Se realizó un análisis de varianza usando el procedimiento mix del Sistema de Análisis Estadístico (SAS® 9.4). Se utilizó un alfa de 0.05 para identificar niveles de significancia de los efectos de varianza y diferencias entre medias.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Producción de volumen de gas.

La producción de gas fue estadísticamente diferente ($P \leq 0.05$) entre cladodios, tallos y raíces, sin embargo, no se encontraron diferencias entre raíces y tallos. Se observó que el mayor volumen de gas se produjo por los cladodios seguido de los tallos y las raíces (130.95, 90.03 y 74.08 mL/g de materia orgánica incubada, respectivamente; Cuadro 2).

Cuadro 2. Medias de la producción de volumen de gas y metano de los tres tratamientos y resultados del análisis de varianza.

Variables	Tratamientos			Valores	
	Cladodios	Tallos	Raíces	F	P
Volumen de gas (mL/g de MO ^Ω incubada)	130.95 a [‡]	90.03 b	74.08 b	30.41	<.0001
Metano (mg/g de MO incubada)	14.66 a	11.30 b	8.38 c	16.23	<.0001

[‡] En la misma línea, medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí ($P < 0.05$).

^Ω MO: Materia orgánica.

La producción de gas es la resultante de la digestibilidad del sustrato. Los componentes tales como carbohidratos estructurados, azúcar, y proteína tendrán mayor tasa de degradabilidad por los microorganismos del rumen. El volumen de gas producto de la fermentación ruminal también está relacionado con la producción de ácidos grasos de cadena corta y metano (Blümmel et al. 1996). En el caso de los cladodios, en estudios anteriores (Dubeux et al. 2016), la digestibilidad fue de 83.4%, mientras que los tallos y raíces 71.1 y 56.4% respectivamente. Probablemente la producción del volumen de gas de los cladodios fue mayor, ya que la concentración de fibra neutro detergente (FND) fue la menor (39.7%) de los tratamientos, reflejando mayor volumen de gas producido. Inferencias similares se presentaron en el estudio realizado por Xiomara et al. (2015) quienes relacionaron el comportamiento de volumen de gas producido de sus tratamientos con la concentración de FND de sus muestras, es decir, el tratamiento con mayor volumen de gas producido coincidió con la concentración más baja de FND.

Producción de metano.

La producción de metano fue diferente entre las tres fracciones del cactus ($P < 0.05$) siendo los cladodios los de mayor producción de metano por gramo de materia orgánica (MO) incubada, seguido por los tallos y raíces (14.66, 11.30 y 8.38 mg, respectivamente; Cuadro 2).

La producción de metano está relacionada con las características físicas y químicas de la dieta, principalmente por la digestibilidad y la concentración de fibra detergente neutro (FND). A medida que los microorganismos son capaces de digerir un alimento con facilidad, los productos de fermentación ruminal se incrementan. La FND determina la frecuencia de consumo y tiempo de retención de un alimento en el rumen. A mayor cantidad de FND el tiempo de retención del alimento aumenta mientras que la frecuencia de consumo disminuye (Botero et al. 2013).

En las incubaciones de cactus *Opuntia stricta*, los cladodios mostraron mayor producción de metano comparado con los tallos y las raíces. Probablemente el incremento se relaciona con la alta digestibilidad (83.4%) del sustrato, produciendo mayor cantidad de metano por gramo de materia orgánica digerida en las incubaciones. Mientras que las raíces mostraron la menor producción de metano producto de la baja digestibilidad (56.4%) y alto FND (70.2%; Dubeux et al. 2016). La producción de metano puede indicar un ineficiente uso en la energía utilizada para procesos fermentativos, ya que a mayor cantidad de metano mayor es la pérdida de energía que podrían haber sido utilizados para producción de ácido propiónico.

Producción de nitrógeno amoniacal ($\text{NH}_3\text{-N}$).

Los tallos, raíces y cladodios produjeron 12.30, 11.35 y 14.97 mM respectivamente, sin embargo, no mostraron diferencias significativas entre sí ($P > 0.05$; Cuadro 3).

Cuadro 3. Medias de medición de nitrógeno amoniacal y pH en los tres diferentes

Tratamientos	Variables			Valores	
	Cladodios	Tallos	Raíces	F	P
Nitrógeno Amoniacal (mM)	11.36 a [‡]	12.30 a	14.97 a	3.17	0.0618
pH	6.32 a	6.45 b	6.52 b	23.16	<.0001

tratamientos del cactus *Opuntia stricta*.

[‡] En la misma línea, medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí ($P \leq 0.05$).

Investigaciones *in vivo* relacionadas con la producción de $\text{NH}_3\text{-N}$ aseguran que a mayor concentración la digestibilidad y eficiencia fermentativa aumentan (Erdman et al. 1986; Wanapat y Pimpa 1999). Las incubaciones de tallos mostraron una tendencia ($P = 0.06$) a acumular mayor cantidad de nitrógeno amoniacal. Esto puede estar relacionado con la baja proliferación de microorganismos que no utilizaron el $\text{NH}_3\text{-N}$.

Cabe recalcar que el estudio se realizó *in vitro* con botellas de vidrio herméticamente cerradas, lo cual no permitió el escape de los productos de la fermentación ruminal. Por lo tanto, la acumulación de $\text{NH}_3\text{-N}$ dentro de las incubaciones de raíces fue mayor. Mientras que las incubaciones de cladodios al ser más digeribles, los microorganismos lograron multiplicarse y utilizar el $\text{NH}_3\text{-N}$ lo que disminuyó ligeramente su concentración (Pengpeng y Tan 2013).

Evaluación de pH.

Se observó que el pH final de las incubaciones fue diferente entre las raíces, tallos y cladodios ($P < 0.05$). Las raíces y tallos no presentaron diferencias entre ellos ($P > 0.05$), sin embargo, aumentaron el pH hasta 6.52 y 6.45 respectivamente, mientras que los cladodios lo disminuyeron (6.32; Cuadro 3).

El pH final es el resultado de la interacción de los productos de la fermentación ruminal. La producción de nitrógeno amoniacal tenderá a aumentar el pH mientras que la producción de ácidos grasos de cadena corta lo disminuirán. En las incubaciones de raíces se observó que el pH es más alto comparado con los demás tratamientos, como consecuencia de la alta concentración de nitrógeno amoniacal (14.97 mM). Por otro lado, el pH de las incubaciones de cladodios fue menor, debido a que la producción de ácidos grasos volátiles (Cuadro 3) fue mayor comparada con los tallos y raíces.

Las raíces presentaron una tendencia a acumular el $\text{NH}_3\text{-N}$, en el consecuente aumento de pH mayor cantidad de $\text{NH}_3\text{-N}$ ($P = 0.0618$). Cabe recalcar que en el estudio se utilizó un medio con buffer, lo cual no permitió observar fluctuaciones abruptas en el pH después de las 48 horas de incubación.

Producción de AGV totales.

Los cladodios, tallos y raíces produjeron diferentes cantidades de ácidos grasos volátiles totales ($P < 0.05$). Las incubaciones de cladodios tuvieron la mayor producción total de AGV, seguido por los tallos y las raíces (106.67, 86.71 y 74.15 mM, respectivamente; Cuadro 4).

Cuadro 4. Media de los Ácidos grasos volátiles (AGV) producidos por tres tratamientos.

Variables dependientes	Tratamientos			Valores	
	Cladodios	Tallos	Raíces	F	P
Total AGV (mM)	106.67 a [‡]	86.71 b	74.15 c	136.46	<.0001
Composición de AGV, mol/100mol					
Acético (A)	72.01 a	74.01 b	73.62 b	10.83	0.0006
Propiónico (P)	17.15 a	16.00 b	15.77 b	10.00	0.0009
Butírico	7.15 a	6.21 b	6.70 c	13.89	0.0001
Valérico	1.00 a	1.00 b	1.05 b	20.41	<.0001
Isobutírico	1.45 a	1.49 a	1.66 b	20.69	<.0001
Isovalérico	0.84 a	0.86 a	0.94 b	12.86	0.0002
Caproico	0.41 a	0.44 ab	0.25 ac	4.09	0.0317
Relación A:P	4.21 a	4.68 b	4.68 b	9.72	0.001
AGV de cadena ramificada (mM)	2.44 a	2.03 b	1.93 b	67.79	<.0001

[‡]En la misma línea, medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí ($P \leq 0.05$).

Normalmente las proporciones de los ácidos acético, propiónico y butírico oscilan entre 65%, 20% y 15%, respectivamente (Rivarola 2008). En los tratamientos evaluados se observó que las incubaciones de cladodios, tallos y raíces mantuvieron un patrón similar en las proporciones de AGV (72.01, 74.01 y 73.62 mol/100 mol, respectivamente). Las concentraciones de AGV totales son el producto de la fermentación de carbohidratos estructurales ocasionadas por bacterias del rumen. La cantidad de AGV está relacionada con la estructura de las dietas, en el caso de las incubaciones de cladodios presentó mayor producción total, probablemente porque la pared celular está constituida por mayor cantidad de celulosa y hemicelulosa, mientras que los tallos y raíces en menos proporción.

Dentro de los microorganismos encargados de los procesos fermentativos se encuentran principalmente las bacterias. Las características del sustrato y pH del rumen o de las incubaciones, determinarán el tipo de bacteria predominante. Generalmente, mientras más fibroso sea un sustrato el pH tiende a ser alto y se desarrollaran mayor cantidad de bacterias hemicelulolíticas y celulolíticas, quienes degradan los carbohidratos estructurales principalmente en ácido acético. Dietas bajas en fibra y alto nivel protéico (concentrados) tienden a bajar el pH y multiplicarse mayor cantidad de bacterias propionogénicas (Rivarola 2008). Este comportamiento pudo haber sido la justificación de la gran cantidad de ácido acético en los cladodios comparado con los tallos y raíces (Cuadro 4). Cabe recalcar que en el estudio se utilizó un medio con buffer, el cual no permitió observar fluctuaciones abruptas en el pH después de las 48 horas de incubación. Se recomienda elaborar estudios que aislen y se identifiquen las poblaciones dominantes en las incubaciones para justificar con mayor exactitud la producción de AGV y composiciones.

La producción de ácido butírico se da por medio de la condensación de dos ácidos acéticos. Con esto en mente se observó que la producción de ácido butírico en los cladodios es mayor comparado con los tallos y raíces. Esto se puede explicar debido a que hay mayor eficiencia en la condensación de los ácidos acéticos producidos por los cladodios y por ende la proporción de ácido butírico es mayor. Mientras que los tallos produjeron menor proporción de ácido butírico y alta producción de ácido acético, donde se puede inferir que la condensación de estos no fue tan eficiente para la producción de ácido butírico (Rivarola 2008).

Relación entre ácido acético y propiónico.

Los resultados fueron estadísticamente significativos en la relación de ácido acético y propiónico entre las fracciones del cactus ($P < 0.05$). La relación más alta se obtuvo en las incubaciones de tallos y raíces siendo 4.68:1 para ambas y 4.21:1 para los cladodios.

Por lo general, el factor de relación entre el ácido acético y propiónico determina cuan eficiente es una dieta para producción de grasa en leche, grasa intramuscular o volumen de leche. Un alimento con relación 3:1, es lo que se busca para alimentación de ganado lechero, debido a que se necesita tener producción de volumen en la leche y acumulación de grasa. Si esta relación fuese más baja habría producción de volumen de leche, pero no habría suficiente ácido acético para producir grasa (Lima et al. 2014).

En cuanto a alimentación de ganado de carne, se espera tener dietas con relación 2:1 lo suficiente para que el ácido acético produzca acumulación de grasa intramuscular (Narvaez et al. 2014).

En relación con los resultados obtenidos en el estudio, la relación 4:1 aproximadamente, no es óptima como fuente de alimentación única en dietas para bovinos, es decir, que se debe suplementar fuentes con mayor valor proteico para compensar la baja cantidad de ácido propiónico producido por el cactus. Si se alimentara ganado lechero únicamente con *Opuntia stricta*, la producción del volumen de leche se puede ver afectada. Por otro lado, si se alimentara bovinos para producción de carne únicamente con el sustrato, las ganancias de peso diario podrían verse limitadas.

AGV de cadena ramificada.

Durante las incubaciones se observó que las tres fracciones del cactus tuvieron diferencias significativas en la cantidad de AGV ramificados producidos ($P < 0.05$). Los que presentaron mayor concentración fueron los cladodios, seguido por los tallos y raíces, 2.44, 2.03 y 1.93 mM, respectivamente (Cuadro 4).

Los AGV de cadena ramificada (isovalérico e isobutírico) se producen en bajas cantidades, sin embargo, son los promotores para el crecimiento de los microorganismos del rumen. Las bacterias tienen la capacidad de sintetizar los AGV de cadena ramificada (isovalérico e isobutírico) y utilizarlos para multiplicarse (Cummins y Papas 1985). Cabe recalcar, que las altas concentraciones de ácido isovalérico e isobutírico favorecen la asimilación de nitrógeno amoniacal por los microorganismos, es decir, que en presencia de mayor cantidad

de AGV de cadena ramificada, las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ bajan y consecuentemente hay mayor cantidad microorganismos (Gunter et al. 1990).

Por lo general, la fermentación de dietas forrajeras con reducido valor proteico, reduce las concentraciones de AGV de cadena ramificada. Como consecuencia las poblaciones de microorganismos no se multiplican y hay menor contenido de proteína microbiana para ser sintetizada por los rumiantes.

Las incubaciones con *Opuntia stricta* demostraron que los cladodios produjeron mayor concentración de AGV de cadena ramificada, lo que indica que posiblemente los microorganismos proliferaron mejor y lograron utilizar el nitrógeno amoniacal reduciendo su concentración (Cuadro 3). La concentración más baja de AGV de cadena ramificada se obtuvo de las raíces, las cuales presentaron altas concentración de $\text{NH}_3\text{-N}$. Esto se debe a la baja de digestibilidad que limitó la proliferación de bacterias ruminales aumentando así las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ en las incubaciones de la raíz.

4. CONCLUSIONES

- Las incubaciones de cladodios presentaron mejores resultados de los productos de la fermentación ruminal tales como la producción de metano, ácidos grasos volátiles, volumen de gas, nitrógeno amoniacal y pH.
- Los resultados obtenidos demuestran que el cactus *Opuntia stricta* podría ser una alternativa viable de subsistencia para alimentación de bovinos ante las adversidades de zonas áridas y semiáridas, sin embargo, no son óptimas para una producción eficiente como suplementación única.

5. RECOMENDACIONES

- Elaborar estudios *in vivo* con bovinos para producción lechera y de carne donde se evalúe los rendimientos y eficiencia en la conversión alimenticia como respuesta a la alimentación a base del cactus *Opuntia stricta*.
- Realizar estudios de alimentación bovina con la combinación entre el cactus *Opuntia stricta* y otras fuentes proteicas que favorezcan la producción de ácido propiónico y AGV de cadena ramificada.
- Evaluar los posibles derivados que se puedan obtener de la explotación del cactus *Opuntia stricta* con el objetivo de mejorar la calidad de vida de la población malagasy.

6. LITERATURA CITADA

- Blümmel M., Makkar, HPS, Becker K. 1996. *In vitro* gas production: a technique revisited. *Animal Physiology and Animal Nutrition*. 77(1-5):24-34.
- Botero IC, Cantet JM, Montoya S, Londoño GA, Rosales RB. 2013. Producción de metano *in vitro* de dos gramíneas tropicales solas y mezcladas con *Leucaena leucocephala* o *Gliricidia sepium*. *Ces Med Vet y Zootec* 8(2):15-31.
- Chaney AL, Marbach EP. 1962. Modified reagent for determination of Urea and Ammonia. *Clin Che*. 8(2): 130-132.
- Cummins KA., Papas AH. 1985. Effect of Isocarbon-4 and Isocarbon-5 Volatile Fatty Acids on Microbial Protein Synthesis and Dry Matter Digestibility *in vitro*. *J. Dairy Sci*. 68(10):2588-2595.
- Dubeux J, Schroth W, Ruiz-Moreno M, Ferreira M, DiLorenzo N, Gutierrez-Beltran MA, Queiroz L. 2016. Nutritive value of 'Raketamena' (*Opuntia stricta*) as a fodder in Madagascar. University of Florida. Animal Science Department.
- Erdman RA, Proctor GH, Vandersall JH. 1986. Effect of rumen ammonia concentration on *in situ* rate and extent of digestion of feedstuffs. *J. Dairy Sci*. 69(9):2312-2320.
- FAO. 2012. Ganadería mundial 2011 - La ganadería en la seguridad alimentaria. Roma. McLeod; [consultado 2017 abril 23]. <http://www.fao.org/docrep/016/i2373s/i2373s00.pdf>
- FAO. 2014. Agricultura y diálogo de culturas. Roma; [consultado 2017 abril 23]. <http://www.fao.org/docrep/008/a0015s/a0015s00.HTM>.
- Gunter SA, Krysl LJ, Judkins MB, Broesder JT, Barton RK. 1990. Influence of branched-chain fatty acid supplementation on voluntary intake, site and extent of digestion, ruminal fermentation, digesta kinetics and microbial protein synthesis in beef heifers consuming grass hay. *J Anim Sci*. 68:2885-2892.
- Larsson P. 2004. Introduced *Opuntia* spp. in Southern Madagascar: Problems and Opportunities. Swedish University of Agricultural Sciences. Minor Field Studies No. 285. Lima ML, Simili FF, Medeiros MI, Neto GB, Ribeiro EG, Paz CC. 2014.

- Performance and rumen parameters of crossbred dairy cows fed two sugarcane varieties combined or not with soybean hulls. R. Bras. Zootec. 43(12):654-661.
- McDougall EI. 1948. Studies on ruminal saliva, the composition and output of sheep's saliva. Biochemical Journal. 43(1):99-109.
- Narvaez N, Alazzeah A, Wang Y, McAllister TA. 2014. Effect of *Propionibacterium acidipropionici* P169 on growth performance and rumen metabolism of beef cattle fed a corn- and corn dried distillers' grains with solubles-based finishing diet. Can. J Anim Sci. 94(2):363-369.
- Pengpeng W, Tan Z. 2013. Ammonia Assimilation in Rumen Bacteria: A Review. J Anim Biotec. 24(2):107-128.
- Rivarola JÁ. 2008. Concentración de ácidos grasos volátiles en líquido ruminal de toretes Charoláis en engorda alimentados con diferentes niveles de masilla y levadura de Cerveza. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro".
- Ruiz-Moreno M, Binversie E, Fessenden SW, Stern MD. 2015. Mitigation of *in vitro* hydrogen sulfide production using bismuth subsalicylate with and without monensin in beef feedlot diets. J Anim Sci. 93(11):5346-5354.
- Wanapat M y Pimpa O. 1999. Effect of Ruminant NH₃-N Levels on Ruminant Fermentation, Purine Derivatives, Digestibility and Rice Straw Intake in Swamp Buffaloes. Asian-Australasian J Anim Sci. 12(6):904-907.
- Xiomara G, Naranjo JF, Barahona R. 2015. Cinética de fermentación *in vitro* de *Leucaena leucocephala* y *Megathyrsus maximus* y sus mezclas, con o sin suplementación energética. Pastos y Forrajes. 38(1):55-63.