



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Identificación del Potencial Antimetanogénico de Plantas Nativas de Sabanas Inundables en la Orinoquía Colombiana

Oscar Mauricio Vélez Terranova

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Palmira, Colombia
2016

Identificación del Potencial Antimetanogénico de Forrajes Nativos de Sabanas Inundables en la Orinoquía Colombiana

Oscar Mauricio Vélez Terranova

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Doctor en Ciencias Agrarias

Director:

DSc., Rómulo Campos Gaona

Línea de Investigación:
Producción Animal Tropical
Grupo de Investigación:
Hartón del Valle

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Palmira, Colombia
2016

(Dedicatoria o lema)

A Dios y a mi familia.

Agradecimientos

A los profesores Rómulo Campos Gaona y Hugo Sánchez Guerrero por el apoyo y acompañamiento durante este proceso, los cuales fueron fundamentales para el desarrollo del presente trabajo.

Un especial agradecimiento al profesor Arcesio Salamanca de la Universidad Cooperativa de Colombia - Arauca y al productor José Ignacio Castellanos y demás integrantes de la familia Canay, por la disposición y aporte de valioso conocimiento sobre plantas nativas y el manejo de la ganadería en condiciones de sabanas inundables.

Al profesor Eugenio Escobar quien fue fundamental para el proceso de identificación botánica de las especies.

A Erika Hernández por su colaboración en la parte administrativa del proyecto.

A la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira y Orinoquia por el apoyo financiero a través de sus Convocatorias: programa nacional de proyectos para el fortalecimiento de la investigación, la creación y la innovación en posgrados de la Universidad Nacional de Colombia 2013-2015, y la convocatoria de investigación para financiar trabajos de grado en posgrado en temáticas relacionadas con la Orinoquía 2014-I.

A los integrantes del grupo Hartón “Conservación, mejoramiento y utilización del ganado criollo Hartón del Valle y otros recursos genéticos animales en el suroccidente colombiano”, que de una u otra forma contribuyeron a la realización del presente trabajo.

Resumen

Se evaluó el potencial antimetanogenico *in vitro* de 19 plantas nativas adaptadas a las épocas seca y lluviosa de las sabanas inundables del departamento de Arauca. Se encontraron principalmente especies herbáceas, arbustivas y arbóreas. La composición nutricional varió entre las plantas seleccionadas con niveles de MS, PC y FDN entre 11.6 - 51.0, 6.9 - 28.2 y 35.2 - 71.2 % respectivamente. Las primeras pruebas de fermentación demostraron que las especies *Senna occidentalis*, *Ambrosia peruviana*, *Belencita nemorosa*, *Galactia jussiaeana* y *Enterolobium schomburgkii* presentaron una alta tasa de degradación con bajos niveles de producción de metano. Al evaluar diferentes dosificaciones de estas plantas sobre un sustrato basal, se encontró que la inclusión del 75 % de las plantas *S. occidentalis* y *E. schomburgkii* redujeron la metanogenesis en 15 y 18% respectivamente, sin afectar la concentración de AGVT e incrementando los niveles de amonio ruminal. Con el sistema Rusitec se confirmó que la alta inclusión de *E. schomburgkii* reduce la metanogénesis ruminal entre 23 -29 % pero a causa de reducir la digestibilidad de la dieta. Con *S. occidentalis* la producción de metano se redujo en 29%, sin embargo, se encontraron excesos de amonio ruminal (549 y 664 mg/L) por encima de lo requerido para crecimiento microbiano.

Palabras clave: Sabana inundable, plantas nativas, metabolitos secundarios, metano ruminal, experimentos *in vitro*.

Abstract

The *in vitro* antimethanogenic potential of 19 plants adapted to the dry and rainy seasons of the Arauca floodable savannas was evaluated. Herbaceous, shrub and tree species were found mainly. The nutritional composition varied between selected plants with DM, CP and NDF levels between 11.6 - 51.0, 6.9 - 28.2 y 35.2 - 71.2 % respectively. The first fermentation tests showed that *Senna occidentalis*, *Ambrosia peruviana*, *Belencita nemorosa*, *Galactia jussiaeana* y *Enterolobium schomburgkii* species presented a high degradation rate with low levels of methane production. Assessing different dosages of these plants on a basal substrate, it was found that the 75% inclusion of *S. occidentalis* and *E. schomburgkii* plants reduced methanogenesis in 15 and 18% respectively, without affecting TVFA concentration and increasing the ruminal ammonia levels. With the Rusitec system it was confirmed that a high inclusion level of *E. schomburgkii* reduced ruminal methanogenesis between 23 -29% because diet digestibility was impaired. *S. occidentalis* species reduced methane production by 29%, however, excess of ruminal ammonia was found (549 and 664 mg / L) beyond that required for microbial growth.

Keywords: Floodable savanna, native plants, secondary metabolites, ruminal methane, *in vitro* experiments.

Contenido

	Pág.
Resumen.....	IX
Lista de figuras.....	XIII
Lista de tablas.....	XIV
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XV
Introducción	1
1. Capítulo 1: Uso de Metabolitos Secundarios de las Plantas para Reducir la Metanogénesis Ruminal	5
1.1 Resumen.....	5
1.2 Introducción	5
1.3 Propiedades antimetanogénicas de los metabolitos secundarios de las plantas	6
1.4 Saponinas	8
1.5 Taninos.....	9
1.6 Aceites Esenciales.....	11
1.7 Compuestos órganosulfurados	12
1.8 Flavonoides	14
1.9 Otros compuestos secundarios antimetanogénicos en plantas	14
1.10 Pasos para la evaluación del potencial antimetanogénico de plantas.....	15
1.11 Conclusiones	15
1.12 Bibliografía	16
2. Capítulo 2: Identificación del potencial antimetanogénico <i>in vitro</i> de plantas nativas de la sabana inundable adaptadas a condiciones de sequía en la Orinoquía Colombiana.....	21
2.1 Resumen.....	21
2.2 Introducción	21
2.3 Materiales y métodos	23
2.3.1 Selección de las plantas a evaluar	23
2.3.2 Fermentación <i>in vitro</i>	23
2.3.3 Parámetros evaluados.....	24
2.3.4 Análisis Fitoquímico	24
2.3.5 Análisis estadístico.....	25
2.4 Resultados y discusión	25
2.4.1 Parámetros de fermentación	25
2.4.2 Composición fitoquímica	28
2.5 Conclusiones	30
2.6 Bibliografía	30

3. Capítulo 3 Propiedades antimetanogénicas <i>in vitro</i> de algunas plantas adaptadas a las condiciones de sabana inundable del departamento de Arauca, Colombia.....	36
3.1 Resumen.....	36
3.2 Introducción	36
3.3 Materiales y métodos	37
3.3.1 Selección del material vegetal.....	37
3.3.2 Evaluación nutricional	38
3.3.3 Prueba de Fermentación <i>in vitro</i>	39
3.3.4 Análisis estadístico.....	40
3.4 Resultados y discusión.....	40
3.4.1 Composición nutricional.....	41
3.4.2 Asociación entre características nutricionales y fermentativas.....	42
3.4.3 Producción de metano y otros parámetros fermentativos	42
3.5 Conclusiones	46
3.6 Bibliografía	46
4. Capítulo 4: Dosificación de plantas nativas de sabanas inundables sobre una dieta basal de <i>Brachiaria humidicola</i> y su efecto sobre la metanogénesis ruminal <i>in vitro</i>.....	51
4.1 Resumen.....	51
4.2 Introducción	51
4.3 Materiales y métodos	52
4.3.1 Material vegetal.....	52
4.3.2 Tratamientos.....	53
4.3.3 Fermentación <i>in vitro</i>	53
4.3.4 Variables evaluadas.....	54
4.3.5 Análisis estadístico.....	55
4.4 Resultados	55
4.5 Discusión.....	58
4.6 Conclusiones	60
4.7 Bibliografía	61
5. Capítulo 5: Dinámica de fermentación y producción de metano en dietas a base de <i>Enterolobium schomburgkii</i> y <i>Senna occidentalis</i> en un sistema Rusitec.....	65
5.1 Resumen.....	65
5.2 Introducción	65
5.3 Materiales y métodos	66
5.3.1 Plantas	66
5.3.2 Tratamientos.....	67
5.3.3 Condiciones de Fermentación del sistema Rusitec	67
5.3.4 Procedimientos analíticos	68
5.3.5 Análisis estadístico.....	68
5.4 Resultados	69
5.5 Discusión.....	73
5.6 Conclusiones	76
5.7 Bibliografía	76
6. Discusión general y conclusiones	81
6.1 Bibliografía	84

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1. Estructura química de las saponinas: (a) triterpenoides (oleanano); (b) esteroides: spirostanol y (c) furostanol.....	9
Figura 1-2. Unidades monoméricas de taninos hidrolizables (ácido gálico y elágico) y condensados (catequina y galocatequina)	10
Figura 1-3. Principales componentes de los aceites esenciales: (a) monoterpenoides (b) sesquiterpenoides y (c) fenilpropanoides	12
Figura 1-4. Compuestos órganosulfurados encontrados en la familia Alliaceae: (a) plantas intactas, (b) compuesto generado a partir de alil-cisteína sulfóxido (en ajo) y (c) 1-propenilo cisteína sulfóxido (en cebolla).....	13
Figura 1-5. Principales Glucosinolatos encontrados en la familia de Brassicaceae: (a) plantas intactas y (b) conversión de glucosinolatos alilo a isotiocianato de alilo (compuesto antimetanológico).....	14
Figura 1-6. Estructuras de los principales flavonoides: a) flavonoles, b) flavonas, c) flavanona, d) antocianidinas y e) isoflavonas	14
Figura 2-1. Ubicación del transecto recorrido y los 17 puntos de observación realizados en condiciones de sabanas inundables del Departamento de Arauca	23
Figura 2-2. Efecto de la inclusión de las plantas a la dieta base sobre la emisión de metano.....	26
Figura 3-1. Recorridos realizados durante las épocas de lluvia (superior) y seca (inferior) en condiciones de sabanas inundables del Departamento de Arauca	38
Figura 3-2. Relación entre MSD y producción de metano después de 24h de fermentación. Control (L.1): <i>Leucaena leucocephala</i> (■); especies con efecto deseado (●); especies con efecto no deseado (◆). *Diferencias con respecto al control para MSD (P<0.05). **Diferencia con respecto al control para MSD y ml CH ₄ / gMSD (P<0.05). <i>S.o:</i> <i>Senna occidentalis</i> , <i>B.n:</i> <i>Belencita nemorosa</i> , <i>G.j:</i> <i>Galactia jussiaeana</i> , <i>M.a:</i> <i>Marsilea ancylopoda</i> , <i>E.s:</i> <i>Enterolobium schomburgkii</i> , <i>A.p:</i> <i>Ambrosia peruviana</i>	45
Figura 4-1. Efecto de la dosificación de las plantas a la dieta base (<i>B. humidicola</i>) sobre la producción de metano <i>in vitro</i> , después de 24h de fermentación	56
Figura 5-1. Degradación de la materia orgánica (superior), ácidos grasos volátiles totales (medio) y producción de metano (inferior) de las dietas experimentales durante el periodo de evaluación. <i>B.h:</i> <i>Brachiaria humidicola</i> ; <i>E.s:</i> <i>Enterolobium schomburgkii</i> ; <i>S.o:</i> <i>Senna occidentalis</i>	72

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 2-1. Descripción de las plantas muestreadas durante el transecto recorrido	25
Tabla 2-2. Parámetros de fermentación <i>in vitro</i> de plantas nativas de sabanas inundables adaptadas a condiciones de sequía en la Orinoquía Colombiana, en 3 horarios de medición (12, 24 y 48 h). 26	26
Tabla 2-3. Producción total de gas y metano después de 48h de incubación.....	27
Tabla 2-4. Análisis fitoquímico cuálitativo de las plantas seleccionadas	28
Tabla 3-1. Lista de las plantas colectadas durante las épocas de lluvias y sequía adaptadas a las condiciones de sabana inundable del departamento de Arauca, Colombia.....	40
Tabla 3-2. Composición nutricional (%) de especies forrajeras colectadas durante las épocas de lluvias y sequía adaptadas a las condiciones de sabana inundable del departamento de Arauca, Colombia.....	41
Tabla 3-3. Características fermentativas <i>in vitro</i> de especies forrajeras colectadas durante las épocas de lluvias y sequía adaptadas a las condiciones de sabana inundable del departamento de Arauca, Colombia después de 24 h de incubación.....	43
Tabla 4-1. Composición nutricional y algunas características taxonómicas de las plantas estudiadas.....	53
Tabla 4-2. Características fermentativas <i>in vitro</i> de cada una de las plantas evaluadas con sus respectivos niveles de inclusión (25, 50 y 75%) después de 24h de fermentación.....	55
Tabla 4-3. Producción de ácidos grasos volátiles individuales y totales después de 24h de fermentación (mmol/L).....	57
Tabla 5-1. Composición nutricional (%) de las dietas evaluadas	67
Tabla 5-2. Parámetros de fermentación de las dietas evaluadas durante los 3 días de medición....	69
Tabla 5-3. Producción de ácidos grasos volátiles individuales y totales de las dietas experimentales	71

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolo	Término
AE	Aceites esenciales
AGV	Ácidos grasos volátiles
AGVT	Ácidos grasos volátiles totales
A:P	Relación acetato:propionato
CEN	Cenizas
CH ₄	Metano
CLA	Ácido linoléico conjugado
CNF	Carbohidratos no fibrosos
EE	Extracto etéreo
FDA	Fibra detergente acida
FDN	Fibra detergente neutra
FP	Factor de partición
H ₂	Dihidrógeno
Lig	Lignina
MS	Materia seca
MSD	Materia seca degradada
MDO	Materia orgánica degradada
N ₂ O	Óxido nitroso
PC	Proteína cruda
pH	Potencial hidrógeno
PSI	Presión en libras por pulgada
R ²	Coefficiente de determinación
TC	Taninos condensados
TH	Taninos hidrolizables
Rusitec	Rumen simulation technique

Introducción

La región de la Orinoquia representa el 22% del territorio colombiano con 25.4 millones de hectáreas de las cuales el 58% está dedicada al uso pecuario. La ganadería representa el 7% del PIB de la Orinoquia, ocupando el tercer lugar después de la agricultura que es la segunda y la minería en primer lugar. En la región existen alrededor de 4.2 millones de cabezas de ganado lo cual representa aproximadamente el 19% del inventario ganadero nacional (Lafaurie, 2011). Parte de la ganadería se desarrolla en condiciones de sabanas inundables las cuales corresponden al 12.5% del área de la Cuenca del Orinoco y alcanzan algo más de 5 millones de hectáreas ubicadas entre los departamentos de Casanare y Arauca. Estos departamentos tienen el 39% de la población bovina de la Orinoquia, y además producen el 68% de la carne consumida en la capital del país, lo que equivale al 16.5 % de la producción nacional de carne bovina (Fernández, 2009; Peñuela et al., 2011).

La actividad ganadera principal es la cría, la cual se desarrolla en pastoreo extensivo o semiextensivo donde se conserva el germoplasma animal y vegetal (gramíneas y leguminosas) sin ninguna alteración antrópica de los ecosistemas y se caracteriza por una producción con bajos rendimientos y poca implementación tecnológica (Lafaurie, 2011; Peñuela et al., 2011). La baja productividad de los sistemas ganaderos está determinada principalmente por la baja calidad de las pasturas que consumen los bovinos en regiones tropicales, las cuales se caracterizan por presentar bajos contenidos proteicos y alta fibra. Otra desventaja que tienen los rumiantes que consumen este tipo de dietas es que emiten altas concentraciones de metano a la atmósfera, un gas de efecto invernadero cuyo nocivo efecto ambiental es considerado una problemática a nivel mundial (Santana et al., 2009; Makkar y Vercoe, 2007).

El metano es producido principalmente por la descomposición bacteriana anaerobia de los compuestos orgánicos de los alimentos en el tracto digestivo de los bovinos, el cual es eliminado como un producto de la fermentación entérica, y también por la descomposición del estiércol en condiciones anaerobias (Merino et al., 2011). En términos de potencial de calentamiento, una unidad de metano (CH_4) es equivalente aproximadamente a 21 unidades de dióxido de carbono (CO_2) (Peters et al., 2012). Según los inventarios de gases publicados por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales de Colombia (IDEAM) indican que la fermentación entérica del ganado genera anualmente el 61% de las emisiones totales de metano en Colombia (Santana et al., 2009).

La producción de metano es una pérdida directa de energía que puede ser potencialmente utilizable por el animal. Una forma de reducir estas pérdidas es a través de la manipulación de la dieta en busca de mejorar la eficiencia de fermentación ruminal (Makkar y Vercoe 2007). Un área de proyección para encontrar alternativas de mitigación de metano ruminal son los metabolitos secundarios de las plantas (Bodas et al., 2012; Santra et al., 2012). Existen evidencias que demuestran que ciertos compuestos naturales (taninos, saponinas, flavoninas, etc) presentan propiedades antimicrobiales, los cuales podrían ser usados contra grupos de microorganismos metanogénicos en el rumen (Santra et al., 2012).

La identificación de plantas con metabolitos secundarios útiles para reducir la metanogénesis ruminal es un área de investigación que aún se encuentra en sus primeras fases (Salem et al., 2012). Aunque no existe una solución única para reducir las emisiones de metano en rumiantes, se considera que el uso de plantas con estas propiedades es una opción viable, especialmente para rumiantes con manejos a base de pastoreo (Buddle et al., 2011; Lascano y Cárdenas, 2010), como es el caso de las sabanas inundables de la Orinoquia Colombiana, donde además existe una diversidad de flora con unos mecanismos adaptativos únicos a condiciones de inundación y sequía (Peñuela et al., 2011), que pueden estar determinando una variabilidad de metabolitos, los cuales podrían ser útiles para reducir la producción de metano entérico. La utilización de este tipo de plantas permite orientar la producción ganadera en sabanas inundables en el mediano y largo plazo hacia una producción limpia, considerando el aporte de los forrajes nativos en la nutrición de rumiantes en pastoreo (Peñuela et al., 2011). Por esta razón, el objetivo del presente trabajo es identificar plantas nativas de las sabanas inundables de Arauca con propiedades antimetanogénicas, para que puedan ser usadas en la alimentación de rumiantes en pastoreo.

Bibliografía

- Bodas, R., Prieto, N., García-González, R., Andrés, S., Giráldez, F.J., López, S. (2012). Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*. 176:78– 93.
- Buddle, B.M., Denis, M., Attwoo, G.T., Altermann, E., Janssen, P.H., Ronimus, R.S., Pinares-Patiño, C.S., Muetzel, S., Wedlock, D.N. (2011). Review Strategies to reduce methane emissions from farmed ruminants grazing on pasture. *The Veterinarian Journal*. 188:11–17.
- Fernández, A. P. (2009). Evaluación de la oferta de especies silvestres asociadas a la ganadería de cría en la sabana inundable, como aporte a la seguridad alimentaria de los habitantes del municipio de Paz de Ariporo, Departamento de Casanare, Colombia. Tesis para optar al título de Especialista en producción Agrícola Tropical Sostenible. Universidad de los Llanos, pag 12-15.
- Lafaurie, J.F., (2011). Los ojos en la Orinoquia. *Ciencia y Tecnología Ganadera*. Carta Fedegán N.º 123. pp 38-43.
- Lascano, C. E., Cárdenas, E. (2010). Alternatives for methane emission mitigation in livestock systems. *Revista Brasileira de Zootecnia*. Vol.39, p.175-182.
- Makkar, H.P.S., Vercoe, P., (2007). Measuring methane production from ruminants. Joint FAO/IEA Division of Nuclear Techniques in food and Agriculture, International Atomic Energy, Vienna, Austria, pp 1-137.
- Merino, P., Ramirez-Fanlo, E., Arriaga, H., Del Hierro, O., Artetxe, A., Viguria, M, (2011). Regional inventory of methane and nitrous oxide emission from ruminant livestock in the Basque Country. *Animal Feed Science and Technology*. 166– 167, 628– 640
- Peñuela, L., Fernández, A., Castro, F., Ocampo, A., (2011). Uso y manejo de forrajes nativos en la sabana inundable de la Orinoquia. *Fundación Horizonte Verde, Universidad de los Llanos – Unillanos*. pp 6 – 65
- Peters, M., Rao, I., Fisher, M., Subbarao, G., Martens, S., Herrero, M., Van der Hoek, R., Schultze-Kraft, R., Miles, J., Castro, A., Graefe, S., Tiemann, T., Ayarza, M., Hyman, G. (2012).

Tropical Forage-based Systems to Mitigate Greenhouse Gas Emissions. Chapter 11, Eco-Efficiency: From Vision to Reality

Salem, A.Z.M., López, S., Robinson, P.H. (2012). Plant bioactive compounds in ruminant agriculture– Impacts and opportunities. *Animal Feed Science and Technology*, 176: 1– 4.

Santana, A., Camacho, C., Estévez, L., García, G., Gómez, M., Gutiérrez, J., Rozo, M., Ballesteros, H. (2009). Agenda desarrollo tecnológico para la cadena prospectiva de investigación y cárnica bovina de Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Federación Colombiana de Ganaderos (Fedegan), Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Universidad Nacional de Colombia. pp 10 – 198.

Santra, A., Saikia, A., Baruah, K.K. (2012). Scope of rumen manipulation using medicinal plants to mitigate methane production. *Pharmacognosy Journal*. Vol 3, Issue 2, pp.-115-120.