



UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

# **Efecto del estado fenológico y los niveles de inclusión de *Sambucus nigra* sobre la producción de metano**

**JOSE ANDRES TABLA ROJAS**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ciencia Animal  
Palmira, Colombia  
2019



# **Efecto del estado fenológico y los niveles de inclusión de Sambucus nigra sobre la producción de metano**

**JOSE ANDRES TABLA ROJAS**

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

**Magister en Ciencias Agrarias**

Director :

**Zoot., Esp., MSc. HUGO SANCHEZ GUERRERO.**

Línea de Investigación:

Producción Animal Tropical

Grupo de Investigación:

Hartón del Valle

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ciencia Animal

Palmira, Colombia

2019



*(Dedicatoria o lema)*

*Este trabajo va dedicado a*

*Dios*

*Mis padres,*

*Mis hermanos*

*Mis amigos.*



## **Agradecimientos**

A los profesores Hugo Sánchez Guerrero y Edmundo Apráez, por el apoyo y acompañamiento durante este proceso

Un agradecimiento especial a Gloria Sandra Espinosa Narváez y Pilar Narváez, de los laboratorios especializados de la Universidad de Nariño – Pasto.

A la zootecnista Janeth Salas por su colaboración en las pruebas de laboratorio Universidad de Nariño – Pasto. y al ganadero Francisco Santacruz por dejar a disposición su cultivo para el presente trabajo.

A la Universidad Nacional de Colombia 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. Al grupo de investigación: “Conservación, mejoramiento y utilización del ganado criollo Hartón del Valle y otros recursos genéticos animales en el suroccidente colombiano”, y a todas las personas que de una u otra forma contribuyeron a la realización del presente trabajo.



## Resumen

El estado fenológico en el *Sambucus nigra* afectó los contenidos de materia seca (MS), la mayor proporción se presentó en fructificación con 22,88%, seguido por floración 19,07% y prefloración 15,87%, la proteína bruta (PB) presentaron diferencias para en los tres estados fenológicos, con valores de 26,79%, 23,78%, y 25,59% ( $p < 0.05$ ), para prefloración, floración y fructificación, respectivamente. Los nutrientes digestibles totales (NDT) en floración y fructificación no presentaron diferencias significativas. Los contenidos de fibra detergente neutra (FDN) en floración (22,94%) fue menor con respecto a prefloración y fructificación, la fibra detergente ácida (FDA) fue significativamente alta en prefloración (21,08%), Los carbohidratos no estructurales (CNE) presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ), con valores de 30,31% (Pr), 38,96% (Fl) y 34,45% (Fr). El análisis fitoquímico cualitativo mostró ausencia de saponinas en las tres edades fenológicas, y los contenidos de taninos, alcaloides, terpenos y esteroides estuvieron en presencia baja a moderada

Para las pruebas de fermentación *in vitro* se usó un sustrato basal de *Lolium perenne* (Variedad Acrobat), se realizaron 10 tratamientos que resultan de 3 edades fenológicas, 3 niveles de inclusión y 1 testigo, las composiciones nutricionales de los tratamientos cambiaron de acuerdo al nivel de inclusión de *S. nigra*, En general todos los tratamientos experimentaron mejoría en su composición.

El mayor %DIVMS fue para el tratamiento testigo (*Lolium sp*) con 64,56%, todos los tratamientos con inclusión de *Sambucus nigra* experimentaron una disminución en la tasa de degradación.

La producción de gas acumulada presentó diferencias entre tratamientos El tratamiento testigo (100% *Lolium sp*) obtuvo una producción de gas de 329 ml/gMSD La producción total de gas más alta fue 488 y 447,7 ml/gMSD de los tratamientos FLOR 30 y PREFLOR 20 respectivamente. La menor producción de gas fue de 277,8ml/grMSD que corresponde al tratamiento FRUCT 30.

La producción de CH<sub>4</sub> tuvo un comportamiento descendente en el estado de FLOR de 36,23, 27,17 y 24,37 mlCH<sub>4</sub>/gMSD con el 10, 20 y 30% de inclusión respectivamente.

X Efecto del estado fenológico y los niveles de inclusión de *Sambucus nigra* sobre la producción de metano

---

FRUCT 20 presentó la producción más baja con 11.93 ml/gMSD, y PREFLOR 30 (79.86 ml/gMSD) fue la mayor producción de CH<sub>4</sub>. La producción de AGVs de los tratamientos, en general hubo diferencias significativas entre los tratamientos

Palabras clave: calidad nutricional, forraje, metabolitos secundarios, rumiantes, Sauco, metano

## Abstract

The phenological stage in the *Sambucus nigra* affected the dry matter (DM) contents, the highest proportion was presented in fruiting with 22.88%, followed by flowering 19.07% and prefloración 15.87%, the crude protein (PB) presented differences for the three phenological stages, with values of 26.79%, 23.78%, and 25.59% ( $p < 0.05$ ), for pre-flowering, flowering and fruiting, respectively. The total digestible nutrients (NDT) in flowering and fruiting did not show significant differences. The contents of neutral detergent fiber (NDF) in flowering (22.94%) was lower with respect to pre-flowering and fructification, the acid detergent fiber (ADF) was significantly high in pre-flowering (21.08%), Non-structural carbohydrates (NSC) presented differences statistically significant ( $p < 0.05$ ), with values of 30.31% (Pr), 38.96% (Fl) and 34.45% (Fr). The qualitative phytochemical analysis showed absence of saponins in the three phenological ages, and the contents of tannins, alkaloids, terpenes and sterols were in low to moderate presence

For the *in vitro* fermentation tests a basal substrate of *Lolium perenne* (Variety Acrobat) was used, 10 treatments were performed resulting from 3 phenological ages, 3 levels of inclusion and 1 control, the nutritional compositions of the treatments changed according to the level of inclusion of *S nigra*, In general all the treatments experienced improvement in their composition.

The highest% DIVMS was for the control treatment (*Lolium sp*) with 64.56%, all treatments including *Sambucus nigra* experienced a decrease in the rate of degradation.

The accumulated gas production showed differences between treatments The control treatment (100% *Lolium sp*) obtained a gas production of 329 ml / gMSD The highest total gas production was 488 and 447.7 ml / gMSD of the FLOR 30 and PREFLOR 20 treatments respectively. The lowest gas production was 277.8ml / grMSD corresponding to the FRUCT 30 treatment.

The production of CH<sub>4</sub> had a descending behavior in the FLOR state of 36.23, 27.17 and 24.37 mlCH<sub>4</sub> / gMSD with 10, 20 and 30% inclusion respectively. FRUCT 20 showed the lowest production with 11.93 ml / gMSD, and PREFLOR 30 (79.86 ml / gMSD) was the highest production of CH<sub>4</sub>, The production of AGVs of the treatments, in general there were significant differences between the treatments

XII Efecto del estado fenológico y los niveles de inclusión de *Sambucus nigra* sobre la producción de metano

---

Keywords: nutritional quality, forage, secondary metabolites, ruminants, Sauco

# Contenido

	Pág.
<b>Resumen</b> .....	<b>IX</b>
<b>Lista de figuras</b> .....	<b>XV</b>
<b>Lista de tablas</b> .....	<b>XVI</b>
<b>Lista de Símbolos y abreviaturas</b> .....	<b>XVII</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>1. Capítulo 1 Metano entérico en rumiantes</b> .....	<b>3</b>
1.1 Introducción .....	5
1.2 Gases efecto invernadero .....	5
1.3 Metabolitos secundarios de plantas. (MSP) .....	10
1.3.1 Terpenos.....	10
1.3.2 Compuestos fenólicos .....	11
1.3.3 Glicósidos .....	12
1.3.4 Alcaloides.....	13
1.4 Metabolitos Secundarios de Plantas (MSP) y producción de CH <sub>4</sub> .....	13
1.5 Conclusiones .....	16
1.6 Referencias bibliográficas.....	17
<b>2. Capítulo 2 Sambucus nigra. Una alternativa de alimentación animal y mitigación de emisiones de Gases efecto invernadero (GHG)</b> .....	<b>23</b>
2.1 Introducción .....	24
2.2 Origen y adaptación.....	25
2.3 Forraje de Sambucus Nigra en la producción ganadera .....	27
2.3.1 Composición nutricional .....	28
2.3.2 <i>Sambucus nigra</i> y producción de metano.....	29
2.4 Conclusiones .....	29
2.5 Referencias bibliográficas.....	29
<b>3. Capítulo 3 La Fenología y su relación con el cambio en las características nutricionales y fitoquímicas de las plantas</b> .....	<b>32</b>
3.1 Introducción.....	32
3.2 Edad Fenología .....	33
3.2.1 Fenología en gramíneas .....	34
3.3 Conclusiones .....	36
3.4 Referencias bibliográficas.....	36

<b>4. Capítulo 4: Composición nutricional y fitoquímica de forraje de <i>Sambucus nigra</i> cosechado en estados fenológicos de prefloración, floración y fructificación.</b>	<b>39</b>
4.1 Introducción.....	40
4.2 Materiales y métodos .....	44
4.2.1 Localización.....	44
4.2.2 Toma de muestras.....	44
4.2.3 Análisis de la información .....	45
4.3 Resultados y discusión.....	45
4.4 Conclusiones.....	54
4.5 Referencias bibliográficas .....	55
<b>5. Capítulo 5: Producción de Metano y otros productos de la fermentación ruminal <i>in vitro</i>.</b>	<b>59</b>
5.1 Introducción.....	60
5.2 Materiales y métodos .....	61
5.2.1 Material vegetal .....	61
5.2.2 Tratamientos.....	61
5.2.3 Incubación <i>in vitro</i> .....	62
5.2.4 Producción de gas. ....	62
5.2.5 Análisis Químico .....	63
5.2.6 Variables evaluadas.....	63
5.2.7 Análisis estadístico. ....	64
5.3 Resultados y discusión.....	65
5.3.1 Composición nutricional del sustrato incubado .....	65
5.3.2 Digestibilidad <i>In Vitro</i> de la materia seca (%DIVMS).....	66
5.3.3 Producción acumulada de gas.....	68
5.3.4 Perfiles de producción de gas.....	69
5.3.5 Comportamiento lineal de media de la producción de gas en relación a la edad fenológica y niveles de inclusión. ....	72
5.4 Conclusiones.....	77
5.5 Referencias bibliográficas .....	78

## Lista de figuras

Pág.

<b>Grafica 1. Perfil de producción de gases para el tratamiento prefloración ...</b>	<b>75</b>
<b>Grafica 2: Perfil de producción de gases para el estado Floración. ....</b>	<b>76</b>
<b>Gráfica 3. Perfil de producción de gases para el estado Fructificación.....</b>	<b>77</b>
<b>Grafica 4. Interacción edad fenológica niveles de inclusión en la producción de gas .....</b>	<b>78</b>
<b>Grafica 5. Interacción edad fenológica niveles de inclusión en la producción de Metano (CH<sub>4</sub>) .....</b>	<b>80</b>

## Lista de tablas

Pág.

Figura. 1. Flujo de carbono a metano y dióxido de carbono en el rumen ..... 22

### Lista de tablas

Tabla 1. Bacterias metanogénicas aisladas del rumen ..... 23

Tabla 2. Resultado de composición nutricional de *S nigra* en tres estados fenológicos. .... 55

Tabla 3. Producción en kg por tonelada de forraje verde en tres edades fenológicas..... 57

Tabla 4. Evaluación cualitativa de metabolitos secundarios. .... 59

Tabla. 5. Edad fenológica y niveles de inclusión de los tratamientos ..... 68

Tabla 6. Composición nutricional de *Lolium perenne* y del sustrato final de incubación de cada estado y nivel de inclusión de *Sambucus nigra*. .... 71

Tabla 7. Digestibilidad *in vitro* de MS (%DIVMS) ..... 73

Tabla. 8. Producción de gas: ml/gMSD. .... 73

Tabla. 9 Efecto del estado fenológico y nivel de inclusión sobre algunos productos de la fermentación ruminal *in vitro*. ....81

## Lista de Símbolos y abreviaturas

<b>Símbolo</b>	<b>Término</b>
AGV	Ácidos grasos volátiles
CEN	Cenizas
CH <sub>4</sub>	Metano
DIVMS	Digestibilidad in vitro de materia seca
EE	Extracto etéreo
FDA	Fibra detergente ácida
FDN	Fibra detergente neutra
GEI	Gases efecto invernadero
MS	Materia seca
MSD	Materia seca degradada
N <sub>2</sub> O	Óxido nítrico
PC	Proteína cruda
pH	Potencial hidrógeno
PSI	Presión en libras por pulgada
R <sup>2</sup>	Coefficiente de determinación

- multiphase fermentation kinetics measured in an automated gas test, and combined gas volume and substrate degradability measurements in a manual syringe system. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 123:517
- Bergoñon Fuster Salvador. 1994. Aislamiento y caracterización química de alcaloides de tipo Amaryllidaceae. Producción de galantamina por cultivos in vitro de narcissus confusus. Memoria para optar el grado de Doctor en Farmacia por la Universidad de Barcelona.
- 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.
- Buitrón, E., & Paladines, O. (2000). Respuesta del Ryegrass perenne (*Lolium perenne*) a la fertilización de mantenimiento y en mezcla con trébol blanco (*Trifolium repens*), Pintag-Pichincha. *Rumipamba*, 14(1), 85-87.
- Carulla, J.E.; Kreuzer, M.; Machmüller, A. and Hess, H.D. 2005. Supplementation of Acacia mearnsii tannin decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Aust J Agr Res*, 56: 961-970.
- Castro-Hernández, Horacio, Domínguez-Vara, Ignacio Arturo, Morales-Almaráz, Ernesto, & Huerta-Bravo, Maximino. (2017). Composición química, contenido mineral y digestibilidad in vitro de raigrás (*Lolium perenne*) según intervalo de corte y época de crecimiento. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 8(2), 201-210.
- CA Cárdenas, C Rocha, RD Castañeda 2016. Efecto de la edad de corte sobre las medidas morfológicas, la composición bromatológica y el fraccionamiento de la proteína del sauco (*Sambucus nigra*). Nota técnica. *Agronomía Costarricense*, 40(2): 107-116. ISSN:0377-9424 / 2016
- Gerber, P. J., et al. (2013). Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production. A review of technical options for non-CO2 emissions, FAO.
- Gutiérrez. F, Alcoser. R, Macías. G, Portilla. A, Espinosa. J (2017). Omisión de nutrientes y dosis de nitrógeno en la acumulación de biomasa, composición bromatológica y eficiencia de uso de nitrógeno de raigrás diploide perenne (*Lolium perenne*) Siembra 4 (1) (2017) 081–092
- Hess, H.D.; Monsalve, L.M.; Lascano, C.E.; Carulla, J.E.; Diaz, T.E. and Kreuzer, M. 2003. Supplementation of a tropical grass diet with forage legumes and *Sapindus saponaria* fruits: effects on in vitro ruminal nitrogen turnover and methanogenesis. *Aust J Agr Res*, 54: 703-713.
- Johnson, K., Johnson D. (1995). Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73. 2483-2492.
- Jonker A., Molano G., Sandoval E., Taylor P.S., Antwi C., Olinga S., Cosgrove G.P (2018) Methane emissions differ between sheep offered a conventional diploid, a high-sugar diploid or a

tetraploid perennial ryegrass cultivar at two allowances at three times of the year). (2018, Jun 01). *Chemicals & Chemistry* Retrieved from <https://search-proquest-com.ezproxy.unal.edu.co/docview/2043877901?accountid=150292>

Makkar, H. P. S., Becker, K. 2007. Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems. *Animal*, 1(9): 1371–1391.

Makkar H 2004 Recent advances in in vitro gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. Assessing quality and safety of animal feeds FAO 2004

Medrano Leal, J.(1994).Influencia de compuestos tóxicos y antinutricionales en la digestión y el metabolismo del rumiante. Alternativas no tradicionales para alimentación de rumiantes. p. 79-111.

Meyer, J. H.,R. Kromann and W. N. Garrett. 1965. Physiology of digestion in the ruminant. Butterworth, London, 1ª Edición, p. 262,

Ngamsaeng A, Wanapat M and Khampa S 2006 Evaluation of local tropical plants by in vitro rumen fermentation and their effects on fermentation end-products. *Pakistan Journal of Nutrition* 5: 414–418.

Njidda, A.A., Nasiru, A. 2010. *In vitro* Gas Production and Dry Matter Digestibility of Tannin-Containing Forages of Semi-Arid Region of North-Eastern Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition*. 9 (1): 60-66

Santacoloma Varón Luz Elena. (2011). Diets in methane emissions during rumination process in cattle production systems. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. RIAA 2 (1) 2011: 55-64.

Ortiz D M, Posada S L y Noguera R. 2014: Efecto de metabolitos secundarios de las plantas sobre la emisión entérica de metano en rumiantes. *Livestock Research for Rural Development*. Volume 26, Article #211.

Posada S L y Noguera R R 2005: Técnica in vitro de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Livestock Research for Rural Development*. Vol. 17, Art. #36. Retrieved Abr 16, 2019, from <http://www.lrrd.org/lrrd17/4/posa17036.htm>

Vargas, J., Pabón, M., & Carulla, J. (2014). In vitro methane production in the incubation of mixtures of grasses and legumes from colombian high-altitude areas. *Archivos de Zootecnia*, 63(243), 397-407. <https://dx.doi.org/10.4321/S0004-05922014000300001>

Vargas JJ, Pabón ML, Carulla JE. Methane production from four forages at three maturity stages in a ruminal in vitro system. *Rev Colombiana de Ciencias Pecuarias* 2018; 31(2):120-129.