

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**CARRERA MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**“EFECTO DEL CONSUMO DE DIETAS A BASE DE RESIDUOS  
POSTCOSECHA DE *Theobroma cacao* SOBRE LAS FUNCIONES RUMINALES  
EN BOVINOS”**

Trabajo de investigación previo a la obtención del grado de:

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**Autora:**

ANDREA ESTEFANÍA LEÓN ANDRADE

**Tutor:**

MARCOS A. BARROS RODRÍGUEZ, PH.D

CEVALLOS - Tungurahua –Ecuador, 2017

## DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

“La suscrita, **ANDREA ESTEFANÍA LEÓN ANDRADE** portadora de cedula identidad número: **1804462370**, libre y voluntariamente declaro que el trabajo de investigación titulado: **“EFECTO DEL CONSUMO DE DIETAS A BASE DE RESIDUOS POSTCOSECHA DE *Theobroma cacao* SOBRE LAS FUNCIONES RUMINALES EN BOVINOS”** es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido será de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas”.



.....  
**ANDREA ESTEFANÍA LEÓN ANDRADE**

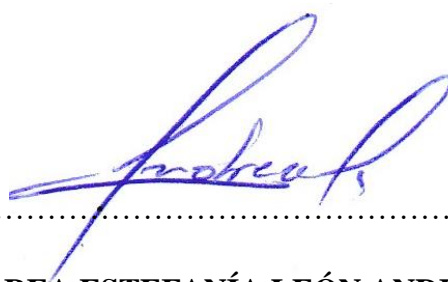
**C.I. 1804462370**

## **DERECHO DE AUTOR**

“Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado: **“EFECTO DEL CONSUMO DE DIETAS A BASE DE RESIDUOS POSTCOSECHA DE *Theobroma cacao* SOBRE LAS FUNCIONES RUMINALES EN BOVINOS”**. Como uno de los requisitos previos para la obtención del título de Tercer Nivel en la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que haga de esta tesis un documento disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de esta tesis, o de parte de ella”.



.....  
**ANDREA ESTEFANÍA LEÓN ANDRADE**

**C.I. 1804462370**

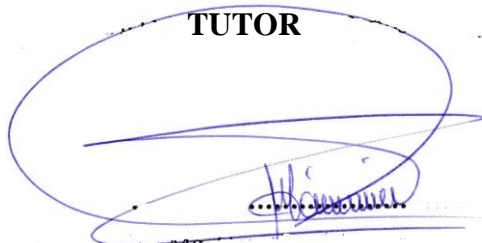
**“EFECTO DEL CONSUMO DE DIETAS A BASE DE RESIDUOS  
POSTCOSECHA DE *Theobroma cacao* SOBRE LAS FUNCIONES RUMINALES  
EN BOVINOS”**

**REVISADO POR:**



**Ing. Marcos Barros Rodríguez. Ph.D.**

**TUTOR**



**Ing. Patricio Núñez. Mg.**

**ASESOR DE BIOMETRIA**

**APROBADO POR LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO:**

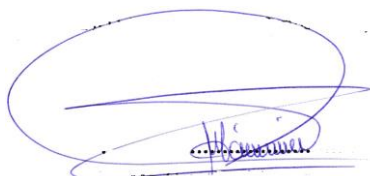


**Ing. Hernán Zurita Vásquez. Mg.**

**Presidente del tribunal**

29 de Septiembre, 2017

**FECHA**



**Ing. Patricio Núñez. Mg.**

**Miembro del tribunal**

29 de Septiembre, 2017

**FECHA**



**Ing. Verónica Rivera. Mg.**

**Miembro del tribunal**

29 de Septiembre, 2017

**FECHA**

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por ser mi fortaleza y guía durante esta etapa de mi vida, en la que he logrado concluir una meta más, que no podría haber sido culminada sin el apoyo de mis Docentes que confiaron en mis habilidades y capacidades, compartiendo sus conocimientos de manera desinteresada día a día, preparándome y formándome como una futura profesional que sea digna de servir a la sociedad.

A mi Tutor Ph.D. Marcos Barros quien puso su confianza en mí y me permitió ser parte de este proyecto investigativo, dándome su apoyo incondicional, compartiendo sus conocimientos y siendo mi guía.

A mi Biometrista Mg. Patricio Núñez y Redactora Técnica Ing. Verónica Rivera quienes me guiaron y apoyaron durante este proceso investigativo para que así culmine de manera exitosa.

Al magnifico grupo de trabajo que me acompañó durante mi investigación y fueron compañeros y amigos en todo momento.

A mis compañeros y amigos con quienes crecí como futura profesional y persona, quienes siempre estuvieron a mi lado, en todo momento haciendo de esta etapa de mi vida un hermoso e inolvidable recuerdo.

## **DEDICATORIA**

Dedico este Proyecto de investigación fruto de mi esfuerzo y firmeza a una mi amada Abuela Mercedes Torres quien vive en mi memoria y corazón, y es mi ejemplo de fortaleza, perseverancia y amor.

A mis padres que con su cariño incondicional me han formado, y están a mi lado como amigos y compañeros, y creen en mí, siempre dándome todo su apoyo y ayudándome a levantarme una y otra vez para seguir adelante.

A mis hermanas y mi familia quienes siempre están a mi lado para brindarme su cariño sincero y amparo incondicional.

## **GRACIAS**

## ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| CAPÍTULO I.....  | 1  |
| INTRODUCCIÓN .....   | 1  |
| CAPÍTULO II .....  | 3  |
| MARCO TEÓRICO.....   | 3  |
| <b>2.1 GANADERÍA EN ECUADOR</b> .....                                  | 3  |
| <b>2.2 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES</b> .....                              | 5  |
| <b>2.2.1 CASCARA O MAZORCA DE CACAO (<i>Theobroma cacao</i>)</b> ..... | 5  |
| <b>2.2.2 Composición Química</b> .....                                 | 6  |
| <b>2.2.3 FUNCIONES RUMINALES</b> .....                                 | 7  |
| <b>2.2.4 Degradación y Digestibilidad Ruminal</b> .....                | 9  |
| <b>2.2.5 Producción de Gases de Efecto Invernadero</b> .....           | 11 |
| CAPÍTULO III.....  | 13 |
| HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....   | 13 |
| <b>3.1 HIPÓTESIS</b> .....   | 13 |
| <b>3.2 OBJETIVO GENERAL</b> .....                                      | 13 |
| <b>3.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....                                 | 13 |
| CAPÍTULO IV.....   | 14 |
| MATERIALES Y MÉTODOS .....   | 14 |
| <b>4.1 UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO</b> .....                             | 14 |
| <b>4.2 CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR</b> .....                             | 14 |
| <b>4.3 ANIMALES, ALOJAMIENTO, ALIMENTACIÓN Y TRATAMIENTOS</b> .....    | 14 |
| <b>4.4 VARIABLES RESPUESTA</b> .....                                   | 15 |
| <b>4.5 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICOS</b> .....           | 18 |
| CAPÍTULO V .....   | 19 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....  | 19 |
| <b>5.1 Consumo Voluntario</b> .....                                    | 19 |
| <b>5.2 pH ruminal, Amoniaco y Ácidos Grasos Volátiles</b> .....        | 20 |
| <b>5.3 Producción de Gas <i>in vitro</i></b> .....                     | 22 |
| <b>5.4 Cinética de degradación ruminal <i>in situ</i></b> .....        | 25 |
| CAPÍTULO VI.....   | 28 |
| CONCLUSIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS .....                              | 28 |

|  |    |
|--|----|
| <b>6.1 CONCLUSIONES</b> .....                  | 28 |
| <b>6.2 BIBLIOGRAFÍA</b> .....                  | 28 |
| <b>CAPÍTULO VII</b> .....                      | 39 |
| <b>PROPUESTA</b> .....                         | 39 |
| <b>7.1 DATOS INFORMATIVOS</b> .....            | 39 |
| <b>7.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA</b> .....  | 39 |
| <b>7.3 JUSTIFICACIÓN</b> .....                 | 40 |
| <b>7.4 OBJETIVOS</b> .....                     | 40 |
| <b>7.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD</b> .....      | 41 |
| <b>7.6 FUNDAMENTACIÓN</b> .....                | 41 |
| <b>7.7 METODOLOGÍA, MODELO OPERATIVO</b> ..... | 41 |
| <b>7.8 ADMINISTRACIÓN</b> .....                | 42 |
| <b>7.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN</b> .....    | 42 |



## ÍNDICE DE TABLAS

|                 |   |    |
|-----------------|---|----|
| <b>Tabla 1.</b> | Composición proximal de los residuos de cacao <i>Theobroma cacao</i> (Abarca <i>et al.</i> , 2010) .....  | 7  |
| <b>Tabla 2.</b> | Contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble en base seca de cacao <i>Theobroma cacao</i> (Abarca <i>et al.</i> , 2010).....  | 7  |
| <b>Tabla 3.</b> | Composición química de las Dietas integrales a base de <i>Theobroma cacao</i> . Composición química de la Dieta (kg/MS excepto donde indica lo contrario).....                                    | 15 |
| <b>Tabla 4.</b> | Consumo voluntario y digestibilidad de los nutrientes (g/Kg MS excepto donde se muestra lo contrario) de dietas con niveles de <i>Theobroma cacao</i> .....                                       | 19 |
| <b>Tabla 5.</b> | Fermentación ruminal a diferentes horas, antes (0 h) y después de la alimentación a Toros canulados con Dietas que contienen 0, 15 y 30% de harina de cascara de cacao ( <i>Theobroma cacao</i> ) | 21 |
| <b>Tabla 6.</b> | Parámetros <i>in vitro</i> de Producción de Gas (ml/0.5 g MS) Como efecto de la adición de Dietas que contienen harina de cascara de cacao ( <i>Theobroma cacao</i> ).....                        | 23 |
| <b>Tabla 7.</b> | Parámetros <i>in vitro</i> de producción de gas (ml/0.5 g MO) Como efecto de la adición de Dietas que contienen harina de cascara de cacao ( <i>Theobroma cacao</i> ).....                        | 24 |
| <b>Tabla 8.</b> | Parámetros de Degradación ruminal de Materia seca de Dietas que contienen 15 y 30% de harina de cascara de cacao ( <i>Theobroma cacao</i> ).....  | 26 |
| <b>Tabla 9.</b> | Parámetros de Degradación ruminal de materia orgánica de Dietas que contienen 15 y 30% de harina de cascara de cacao ( <i>Theobroma cacao</i> ).....  | 27 |

## RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la harina de residuos de cacao, incorporado en las dietas de bovinos adultos, machos canulados, sobre las principales funciones ruminales, para lo cual se suministró tres tratamientos, un tratamiento testigo (T0), un tratamiento con 15% de harina de residuos de cacao (T1) y otro con 30% de harina de residuos de cacao (T2). Las funciones ruminales evaluadas fueron la el consumo voluntario, el pH, producción de nitrógeno amoniacal y AGV's, cinética de la degradación ruminal *in situ* y la producción de gas *in vitro*, parámetros que mostraron una tendencia positiva sobre el tratamiento con 15% de harina de residuos de cacao. En el análisis sobre el consumo voluntario presentaron la mayos aceptación los T1 y T2, además el pH ruminal se mantuvo por debajo de 6 disminuyendo la actividad celulolítica, pero óptimo para los microorganismo ruminales amilolíticos lo que favorece la degradación de carbohidratos no estructurales y con ello, la formación de ácido propiónico en el rumen; los resultados obtenido en el D2 fue debido posiblemente al contenido de grasa insaturada que poseen los residuos de cacao la cual influye en la formación de energía a través del ácido propiónico en el rumen, en cuanto a la cinética de la degradabilidad *in situ* de la Materia Seca y la Materia Orgánica, se obtuvo la mayor degradación en los toros alimentados con el T1 y T2, en la fracción A (Fracción soluble/MS:P=0.0100-MO: P=0.0008), y se mantuvo la tendencia con respecto a las horas de degradación ruminal, sin embargo en el análisis de producción de gas *in vitro* se observó que el T2 genera la menor producción total de gas (P=<0,0001) sobre las dietas incubadas. Se concluyó que el adicionar a una dieta balanceada el 15% de harina de residuos de cacao, genera una degradación efectiva sobre los nutrientes consumidos por el animal y además disminuye el volumen de producción de gases de efecto invernadero, optimizando la productividad del animal, ya que mejora su nutrición al degradar efectivamente los alimentos ingeridos y disminuir su gasto energético en la producción de gases de efecto invernadero.

**Palabras claves:** cascara de cacao, consumo voluntario, pH, producción de nitrógeno amoniacal, AGV's, cinética de degradabilidad, producción de gas, *in situ*, *in vitro*, bovinos.

## ABSTRACT

The objective of the present investigation was to evaluate the effect of cocoa residue flour, incorporated in cannulated male adult bovine diets, on the main ruminal functions, for which three treatments, one control treatment (T0) a treatment with 15% cocoa residue flour (T1) and another with 30% cocoa residue flour (T2). The ruminal functions evaluated were: voluntary consumption, pH, ammonia nitrogen and VFA, kinetics of in situ ruminal degradation and gas production in vitro, parameters that showed a positive trend over treatment with 15% cocoa residue flour. In the analysis on voluntary consumption, T1 and T2 were the most accepted, and ruminal pH remained below 6, decreasing cellulolytic activity, but optimal for amylolytic ruminal microorganisms, which favors the degradation of non-structural carbohydrates and with this, the formation of propionic acid in the rumen; the results obtained in the D2 were possibly due to the unsaturated fat content of the cocoa residues, which influences the formation of energy through the propionic acid in the rumen, in terms of kinetics of the in situ degradability of Matter Dry matter and Organic matter, the highest degradation was obtained in the bulls fed with T1 and T2, in fraction A (soluble fraction / MS:  $P = 0.0100$ -MO:  $P = 0.0008$ ), and the trend was maintained with respect to the hours of ruminal degradation, however, in the analysis of in vitro gas production, it was observed that T2 generates the lowest total gas production ( $P = <0,0001$ ) on the incubated diets. It was concluded that adding to a balanced diet 15% of cocoa residue meal, generates an effective degradation on the nutrients consumed by the animal and also decreases the volume of production of greenhouse gases, optimizing the productivity of the animal, and which improves their nutrition by effectively degrading ingested foods and reducing their energy expenditure in the production of greenhouse gases.

**Key words:** cocoa shell, voluntary consumption, pH, ammonia nitrogen production, AGVs, degradability kinetics, gas production, in situ, in vitro, cattle.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad la necesidad de buscar recursos naturales propios de las zonas que sirvan como alimentos no tradicionales, pero que compitan con los requerimientos nutricionales de los animales de producción, ha llevado al uso de residuos vegetales como son la cascarilla de cacao; siendo este una gran alternativa por su alto contenido nutricional y principalmente energético, sin embargo, residuos como la cascara o mazorca aun no son aprovechados en su gran mayoría. Considerando que el Ecuador es conocido como uno de los países mayores productores de cacao fino de aroma, impulsando por décadas la economía y la industrialización en torno a este producto; su uso se ha destinado principalmente para el consumo humano; siendo un producto elaborado genera gran cantidad de residuos (Murillo & Quilambaqui, 2008). Usar estos residuos como una alternativa alimenticia en la dieta de animales de producción, no solo ayuda al medio ambiente, disminuyendo la contaminación que generan estos desperdicios, además puede disminuir el costo de producción, e inclusive puede mejorar la productividad animal.

En Ecuador el ganado bovino lidera el sector pecuario con 4,13 millones de cabezas de ganado a nivel nacional en el año 2016, y el 49,48% de estas se producen en la región sierra (ESPAC, 2016).

La producción bovina, depende de factores exógenos (dieta, clima, entre otros), y endógenos (aspectos fisiológicos y metabólicos), que afectan su rendimiento y calidad de manera positiva o negativa; uno de los factores más importantes, que se ve afectado por la alimentación, es el metabolismo digestivo, el cual se compone de varios mecanismos que interactúan entre sí, principalmente en el ambiente ruminal, donde se genera más del 60 % de la energía (ácidos grasos volátiles: AGV's) que el animal utilizará para su mantenimiento y producción, y entre el 60 y 80 % de la proteína necesaria para el crecimiento y producción, la cual es sintetizada en el rumen por los microorganismos (Fernández, 1998).

Las condiciones ambientales en las que se desarrolla el proceso de degradación de los alimentos, y la interacción entre los distintos microorganismos ruminales determinan el grado y ritmo de la digestión del forraje y de los alimentos en general. El éxito de la ecología ruminal bovina, se debe a los beneficios de la fermentación pregástrica, es decir el metabolismo microbiano ruminal en ausencia de oxígeno, que convierte a los carbohidratos en productos orgánicos como los AGV's, ácido láctico y etanol. Estos productos retienen la mayor parte de la energía original del sustrato, como consecuencia de la falta de oxígeno para su oxidación completa a dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y agua (Fernández, 1998). Los procesos fermentativos ruminales también producen gases conocidos como de efecto invernadero, entre ellos, el CO<sub>2</sub> y el metano (CH<sub>4</sub>), los cuales son grandes contribuyentes al calentamiento global y deterioro de la capa de ozono, por su liberación a la atmósfera-. El principal factor biótico ruminal productor de metano son las bacterias anaerobias metanógenas (arqueas metanógenas). Estas bacterias utilizan diferentes sustratos para la producción de metano, siendo los principales el dihidrógeno (H<sub>2</sub>) y el CO<sub>2</sub>. Además, se considera que la producción de estos gases principalmente el metano implica una pérdida de energía, potencialmente utilizable; lo cual repercute negativamente sobre la producción (Carmona *et al.*, 2005).

Diversas evidencias muestran que la tasa de emisión de metano por fermentación ruminal, está relacionada con las características físico-químicas de la dieta, las cuales afectan el nivel de consumo y frecuencia de alimentación (Carmona *et al.*, 2005; Dong, *et al.*, 2015; Johnson & Johnson, 2000), razón por la cual una subnutrición contribuye al incremento de las emisiones de metano.

El mejoramiento de las características nutricionales de la dieta con la implementación de suplementos, que promuevan procesos fermentativos a nivel ruminal, se reflejará en mayor productividad y disminución en la emisión de metano (Carmona *et al.*, 2005). En base a lo mencionado, el objetivo de este estudio es evaluar el efecto de la ingestión de dietas a base de residuos postcosecha de *Theobroma cacao* sobre las funciones del rumen y producción de gases de efecto invernadero en bovinos.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 GANADERÍA EN ECUADOR

La ganadería produce un gran impacto ambiental, por ejemplo, se tiene que talar árboles para lograr un suelo apto para los pastizales, lo que alienta la deforestación y la degradación del suelo, cuyas consecuencias son la erosión, sedimentación y disminución de la captación de agua, esto conlleva a hacer embalses de agua para el riego, alterando las fuentes de agua, ya sea superficial y subterránea por filtración, medidas que disminuyen la biodiversidad de especies y los recursos ambientales. Además los residuos que provocan las ganaderías industriales tienen un gran impacto en el suelo mediante la toxicidad y saturación con minerales, y el aire por la producción de amoníaco, olores y gases de efecto invernadero (Silva *et al*, 2016).

Todo esto reduce potencialmente la productividad por la pérdida paulatina de fertilidad de suelos, impactos negativos en la biodiversidad y excesivo uso de agroquímicos como pesticidas y fertilizantes que causan daño a las personas, la fauna, y al ecosistema.

Según la Federación Nacional de Ganaderos en el Ecuador cada año se producen 300 millones de libras de carne bovina, y se destinan 760 000 cabezas de ganado para la producción; el 70% de la producción proviene de la Costa y el 30% restante de la Sierra y Amazonia (Mestanza & Velasco, 2015). Además podemos tomar en cuenta que según declaraciones de la Sra. Margot Hernández, Subsecretaria de Ganadería del MAGAP, en el 2017 se podrá exportar aproximadamente USD 65 millones, en carne de res (Astudillo, 2017).

Es necesario mencionar la importancia que tiene la relación entre los insumos utilizados para la alimentación del ganado bovino, con la calidad y nivel de productividad; considerando que el Ecuador como la mayoría de zonas tropicales y subtropicales, basa la alimenticia del ganado bovino, en pastos y forrajes propios de la zona, los cuales se ven afectados por las variantes climáticas, suelos pobres en nutrientes, entre otros factores, que

disminuyen su calidad, y afectan el nivel nutricional de los bovinos, disminuyendo la producción.

Para contrarrestar estas deficiencias nutricionales se han generado balanceados que complementan la alimentación bovina, sin embargo, estos productos se formulan a base de materias primas de alta calidad, que son en su mayoría importadas, elevando su costo, y limitando al productor en su consumo (Chedly & Lee, 2001). Es por esta razón que se buscan otras alternativas para suplementar y mejorar la alimentación bovina, considerando pastos y forrajes propios de la zona, que no compitan con la alimentación humana; principalmente utilizar los residuos de plantaciones que puedan aportar con los requerimientos nutricionales de los animales.

El tipo de dieta, el nivel energético y nitrogenado de la ración influyen en la concentración y composición de la ecología ruminal a través de la acción directa o indirecta sobre el pH y la tasa de pasaje del contenido ruminal. (Carmona, 2007). Además de la estrecha relación que existe entre la variedad de alimento que se suministra a los bovinos, y la producción de gases de efecto invernadero, debido a que, los protozoos, bacterias y hongos existentes en el rumen son responsables de la digestión de la mayoría de los nutrientes, principalmente de los carbohidratos complejos de la pared celular de los vegetales; por este motivo se realizó un estudio donde se determinó la calidad nutritiva del follaje de diversas plantas tropicales, considerando el nivel de producción de gas metano y la población de protozoos ruminales (Galindo *et al.*, 2014).

Las diferencias entre dietas forrajeras y dietas ricas en concentrado son altamente significativas; las dietas forrajeras favorecen el establecimiento de una flora fibrolítica, la misma que constituye un grupo de microorganismos capaces de procesar las paredes celulares de las plantas, donde predominan bacterias del genero *Butyrivibrio spp.*; mientras que en dietas concentradas con bajos niveles de fibra, la población bacteriana es mayor, con poblaciones aminolíticas donde predominan bacterias del tipo *Selenomonas*, *Peptostreptococci* y *Lactobacilli* (McAllister *et al.*, 1993).

Los concentrados suelen tener alta velocidad de digestión y de producción de ácidos, por lo que el medio se acidifica y se reducen las poblaciones celulolíticas y metanogénicas que son más sensibles al pH ácido (Van Soest, 1982). La proteína bruta y los hidratos de carbono fermentados en el rumen se consideran como los principales nutrientes que se

necesitan para el crecimiento de los microorganismos ruminales. De esa manera, la fermentación de las proteínas en el rumen proporciona nitrógeno amoniacal, aminoácidos, esqueletos carbonados y energía en forma de Adenosin trifosfato (ATP) para la síntesis de proteína microbiana. Es evidente que el suministro de dietas que proporcionen elementos carbonados como nitrogenados, contribuirán a una mejor utilización de los nutrientes para los procesos metabólicos y productivos de los animales en crecimiento (Stern *et al.*, 1994).

Es necesario limitar el consumo de energía del animal, en la producción de gases de efecto invernadero, tomando en cuenta los factores responsables de los niveles de producción de metano. Uno de los factores es la cantidad de carbohidratos fermentados en el retículo y rumen, en las interacciones dieta-animal, y la tasa de pasaje; otro factor es la formación de AGV's, la cual regula la producción de hidrógeno y la subsecuente producción de metano (Johnson & Johnson, 2000).

El aspecto de mayor impacto en la metanogénesis es la relación ácido acético (aa): ácido propiónico (ap). Si esta relación llega a ser de 0 aa: 5 ap la pérdida energética puede ser de 0%. Pero si todos los carbohidratos fuesen fermentados a ácido acético y no se produjera propiónico, las pérdidas energéticas podrían llegar a ser del 33%. La relación acético: propiónico puede variar entre 0.9 a 4%, por lo tanto, las pérdidas energéticas por metano varían ampliamente. De esta manera concluimos que es necesario que la alimentación suministrada disminuya o mantenga un nivel bajo de producción de metano, para impulsar un mayor aprovechamiento de la energía metabolizada por el animal, y transformarla en mayor productividad.

## **2.2 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES**

### **2.2.1 CASCARA O MAZORCA DE CACAO (*Theobroma cacao*)**

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una especie de planta leñosa tropical de la familia Malvaceae (Almeida & Valle, 2007), nativa de las regiones tropicales húmedas de Sur América y Centro América (Montamayor *et al.*, 2002); considerado uno de los cultivos de hojas perennes más importantes a nivel mundial, con una producción de cacao en grano de 4,236 millones de toneladas en el periodo 2014-2015 (ICCO, 2017). El Ecuador es el quinto productor de cacao a nivel mundial con aproximadamente 240 mil toneladas



métricas de cacao con un área de siembra de 500,000 ha (SINAGAP, 2014), aportando el 5% del cacao que se consume a nivel mundial (FAO, 2010), y siendo el primero en Suramérica en la producción de cacao fino de aroma. Las semillas de cacao son la principal cosecha de las regiones tropicales a nivel mundial, pero solamente cerca del 10% por peso fresco de la fruta es comercializado, pese a que el cacao contiene cerca de 300 compuestos volátiles incluyendo esteroides, hidrocarbólicas, monocarbonilos, piroles, y otros más. (Abarca, *et al.*, 2010)

Cada tonelada de semilla seca representa cerca de 10 toneladas de cáscara del cacao en peso fresco (Mejía, & Argüello, 2000). Hoy en día, las cáscaras o mazorcas son producto de desecho, que figuran un grave problema para las industrias, por generar contaminación e inclusive aportar con la formación de hongos en el suelo que afectan al cultivo.

El contenido de teobromina y cafeína restringen la proporción en la cual pueden ser consumidos los residuos de cacao, sin embargo, los reportes indican que esta materia prima puede constituir hasta el 20% de una ración para aves de corral, de 30-50% para cerdos, y 50% para ovejas, cabras y ganado lechero. Además, su aceptación por los animales es satisfactoria (Wood & Lass, 1985).

### **2.2.2 Composición Química**

El cacao contiene cerca de 18% de proteínas (8% digestible), grasas (manteca de cacao), aminas y alcaloides incluyendo theobromina (0,5 a 2,7%), cafeína (0,25 a 1,43%), tiramina, dopamina, salsolinol, trigonelina, ácido nicotínico y aminoácidos libres; taninos, fosfolípidos, entre otros. La cáscara del cacao posee un pigmento que es un poliflavonoglucosido el cual es muy requerido por ser resistente a calor y luz, muy estable a pH de 3 a 11, y muy usado como colorante de alimentos (Leung, 1980).

La cascara de cacao puede ser una alternativa para la alimentación de rumiantes, ya que contiene de 3 a 4% de sales de potasio en base seca, 6.5% de proteína cruda, 27% de fibra cruda, 46.4% de carbohidratos, 3.12% de grasa y 236.4% calorías (Brenes, 1990; Villamizar, *et al.*, 2016). En un estudio realizado en Ecuador, se determinó la composición química de algunos residuos agroindustriales, entre ellos residuos postcosecha de cacao, con el fin de potencializar su posible uso; se buscó identificar el contenido de Fibra Dietaria Total (FDT), y sus fracciones de Fibra Dietaria Soluble (FDS) e Insoluble (FDI), además se analizó su composición proximal, la misma que se puede observar en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Composición proximal de los residuos de cacao (*Theobroma cacao*)

| PRODUCTO   | ESPECIFICACIONES      | RESIDUO       | PARAMETROS EN PORCENTAJE |       |      |      |       |       |
|--|-----------------------|---------------|--------------------------|-------|------|------|-------|-------|
|  |                       |               | Hm                       | P     | G    | Cz   | FC    | ELN   |
| <b>Cacao</b><br>( <i>Theobroma cacao</i> )<br><b>variedad nacional</b> | Cone<br>Los Ríos (C1) | CASCARA C1    | 6.72                     | 4.52  | 2.40 | 8.92 | 33.26 | 44.18 |
|  |                       | CASCARILLA C1 | 7.80                     | 17.13 | 2.22 | 7.33 | 21.38 | 44.14 |
|  |                       | MUCILAGO C1   | 9.27                     | 6.13  | 2.11 | 8.46 | 0.41  | 73.62 |
|  | Taura<br>Guayas (T2)  | CASCARA T2    | 6.53                     | 4.50  | 2.50 | 9.01 | 33.78 | 43.68 |
|  |                       | CASCARILLA T2 | 7.31                     | 17.10 | 2.18 | 7.93 | 21.41 | 44.07 |
|  |                       | MUCILAGO T2   | 9.64                     | 6.05  | 2.13 | 8.31 | 0.43  | 73.44 |

Hm: Humedad, P: Proteína, G: Grasa, Cz: Ceniza, FC: Fibra Cruda, ELN: Extracto libre de nitrógeno

Fuente: Abarca *et al.* (2010)

Los residuos estudiados fueron pergamino y pulpa de café, cáscara, cascarilla y mucilago de cacao, y cáscara, pulpa y residuos de extracción de gel de la tuna. Obteniendo como resultado que son buenas fuentes de FDI el pergamino de café, cáscara de cacao y cáscara de tuna; buenas fuentes de FDS el mucílago de cacao, la cascarilla de cacao y pulpa de tuna, los dos últimos presentaron un buen balance entre FDI/FDS, como se puede apreciar en la Tabla 2, lo que permite catalogarlos como excelentes fuentes para ser adicionado en alimentos. En cuanto a sus propiedades funcionales los residuos con mayor capacidad de adsorción de grasa (FAC) fueron la cáscara y cascarilla de cacao.

**Tabla 2.** Contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble en base seca de cacao (*Theobroma cacao*)

| PRODUCTO  | RESIDUO       | FDT (%)      | FDI (%)      | FDS (%)      | FDI/FDS |
|---|---------------|--------------|--------------|--------------|---------|
| Cacao ( <i>Theobroma cacao</i> )<br>variedad nacional | CASCARA C1    | 64.92 ± 0.31 | 59.74 ± 0.42 | 4.74 ± 0.1   | 13.2/1  |
|   | CASCARILLA C1 | 61.44 ± 0.13 | 41.92 ± 0.19 | 19.14 ± 0.07 | 2.2/1   |
|   | MUCILAGO C1   | 20.48 ± 0.26 | 0.95 ± 0.30  | 16.57 ± 0.19 | 0.05/1  |
|   | CASCARA T2    | 64.09 ± 0.48 | 60.79 ± 0.82 | 3.30 ± 0.04  | 18.4/1  |
|   | CASCARILLA T2 | 66.33 ± 0.23 | 49.09 ± 0.09 | 16.91 ± 13   | 2.9/1   |
|   | MUCÍLAGO T2   | 20.52 ± 0.13 | 0.84 ± 0.30  | 19.67 ± 0.18 | 0.04/1  |

FDT: Fibra dietaria total; FDS: Fibra dietaria soluble; FDI: Fibra dietaria insoluble

Fuente: Abarca *et al.* (2010)

### 2.2.3 FUNCIONES RUMINALES

Los bovinos son animales poligástricos, capaces de obtener nutrientes a partir de carbohidratos estructurales y de aprovechar fuentes de nitrógeno no proteico, la fermentación de los carbohidratos y los demás nutrientes se realizada por los microorganismos presentes en el rumen, de este proceso resulta la producción de ácidos grasos, principalmente acético y butírico, como también la producción de gases de desecho

como el CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>, conocidos como de efecto invernadero, y el óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) producto de la excreción de nitrógeno que no logra ser asimilado, lo que implica una gran pérdida de energía (Johnson & Johnson, 1995).

Generalmente la alimentación de los bovinos en nuestro medio se basa en dietas forrajeras, ya que la degradación de las paredes celulares de las plantas por parte de los rumiantes en procesos fermentativos es eficiente, por la acción directa de los microorganismos de la flora ruminal, que producen enzimas fibrolíticas en una cámara cerrada anaerobia; sin embargo, la digestibilidad de la fibra en el rumen no es total, ya que en las heces bovinas se ha encontrado residuos de fibra digestible, por este motivo se buscan alternativas que mejoren la degradación de los nutrientes, mediante la manipulación de la ecología ruminal (Krause *et al.*, 2003).

Para poder modificar y mejorar la ecología ruminal es necesario comprender como se encuentra conformada y como actúa cada microorganismo. La mayor parte de la población microbiana se encuentra conformada por Fibrobacterias Gram-negativas, como *Fibrobacter succinogénes*, y dos especies de bacterias Gram-positivas *Ruminococcus albus* y *flavefaciens*, y *Butyrivibrio fibrisolvens*, que tienen un papel central en la digestión; otro microorganismo eficiente es la *Prevotella ruminicola*, la cual no se consideran como una bacteria altamente celulolítica, pero desempeña un papel significativo en el metabolismo de las proteínas y péptidos. Además de bacterias, existen hongos como el *Neocallimastix sp.* de gran importancia a nivel ruminal (Liu *et al.*, 2016).

Todos estos microorganismos viven en completa simbiosis, de manera que su trabajo en conjunto permite que los rumiantes puedan digerir la mayor parte del alimento consumido, e inclusive hidrolicen polímeros de carbohidratos vegetales, algo que otras floras microbianas de animales no rumiantes no pueden hacerlo. El rumen por tanto se convierte en una cámara de fermentación pre-gástrica, con un ambiente óptimo para el desarrollo de la comunidad de microorganismos que colonizan rápidamente; los productos finales de esta fermentación microbiana son ácidos grasos, que forman un combustible metabólico esencial para los rumiantes, y las células microbianas, por ser una fuente importante de proteínas y aminoácidos (Krause *et al.*, 2003).

Las concentraciones de las poblaciones microbianas que viven en el rumen en anaerobiosis, son de 10<sup>10</sup>/ml bacterias, 10<sup>6</sup>/ml protozoarios y 10<sup>4</sup>/ml hongos, estas

concentraciones permiten que se mantenga un estado de simbiosis adecuado en el ambiente ruminal (Jouany, 1994). Para que se dé un óptimo desarrollo de los microorganismos de crecimiento lento, tales como los hongos y protozoarios ruminales, y se mantengan las concentraciones adecuadas, se necesita que el alimento digerido por el rumiante permanezca dentro del rumen de 48 a 72 horas (McAllister *et al.*, 1994). Mientras que los tiempos de multiplicación microbiana varían de 5 a 14 horas para los protozoarios (Williams & Coleman, 1997) y de 24-30 horas para los hongos (Bauchop, 1981; Joblin, 1981). Es posible que la replicación bacteriana este directamente relacionada con el porcentaje de degradación de las materias por parte de los microorganismos, debido a que las bacterias en el rumen están asociadas a los sólidos alimenticios, al líquido y a la pared ruminal. (Bergen, 1977)

#### **2.2.4 Degradación y Digestibilidad Ruminal**

Los carbohidratos y las proteínas son los principales sustratos degradados por los microorganismos ruminales, y de estos se obtendrá la energía y compuestos nitrogenados para el mantenimiento, crecimiento y producción del animal.

Los carbohidratos son la principal fuente de energía para los bovinos, ya que mantienen un óptimo funcionamiento ruminal. Estos se dividen en carbohidratos estructurales o fibrosos (celulosa, hemicelulosa y peptina), siendo los componentes de la pared celular a excepción de la lignina, que no logra ser degradada de manera correcta, y no estructurales o no fibrosos, que no forman parte de la estructura vegetal (azúcares simples, hidratos de carbono de reserva y ácidos orgánicos). Las enzimas propias del bovino no son capaces por si solas de degradar los carbohidratos fibrosos, por tanto, los microorganismos ruminales serán los que se especializarán en producir enzimas que logren degradar estos carbohidratos.

Ante un cambio de dieta, la población tiene que adaptarse al medio y el tipo de nutrientes que lo conforman. El mayor riesgo se produce al introducir grandes cantidades de concentrado en animales que reciben una dieta forrajera, por su efecto sobre las bacterias que producen y utilizan lactato. En un principio, por efecto del descenso en el pH, desaparecen las bacterias utilizadoras de lactato, y las amilolíticas son sustituidas por otras bacterias productoras de lactato, llevando a un descenso de pH más grave, y una acidosis láctica. Pero al adaptarse, las poblaciones formadoras de lactato, y las utilizadoras se

equilibran, prácticamente no se detecta ácido láctico en el contenido ruminal (Dehority & Orpin, 1997).

La proteína es particularmente vulnerable a la fermentación ruminal, debido a que está formada por carbonos, los cuales se pueden reducir todavía más que los carbohidratos para proveer energía a los microorganismos. Los microorganismos del rumen son capaces de sintetizar todos los aminoácidos, incluyendo los esenciales para el hospedador. Por lo tanto, los rumiantes son casi totalmente independientes de la calidad de las proteínas ingeridas. Además, los microorganismos pueden utilizar fuentes de nitrógeno no proteico (NNP) como sustrato para la síntesis de aminoácidos (Tamminga, 1979).

A medida que las proteínas y el NNP entran al rumen son atacados por enzimas microbianas extracelulares, la mayor parte de estas enzimas son endopeptidasas parecidas a la tripsina, las cuales forman péptidos de cadena corta como sustratos terminales; estos péptidos se originan extracelularmente y son absorbidos hacia el interior de los microorganismos (Ushida *et al.*, 1990); en el citosol los péptidos son degradados a aminoácidos y éstos son utilizados para la formación de proteína microbiana o son degradados todavía más para la producción de energía a través de la vía de los AGV's; para que los aminoácidos entren a esta vía, primero son desaminados para dar lugar al amoniac y a un esqueleto carbonado (Stern *et al.*, 1994); el amoniac es el principal compuesto nitrogenado que utilizan los microorganismos para la síntesis de aminoácidos y proteínas, hay que considerar que para esto se requiere suficiente energía o carbohidratos; el amoniac se utiliza además para la formación de diversos componentes nitrogenados de la pared celular y ácidos nucleicos.

El amoniac liberado en el rumen es absorbido en la sangre, y conducido al hígado en donde se forma urea, la cual se puede reciclar en la saliva o eliminarse a través de la orina (Poppi & McLennan, 1995). El esqueleto carbonado de muchos de estos aminoácidos se puede incorporar directamente en diferentes partes de la vía de formación de los AGV's, dando lugar a la producción de los tres principales AGV's, acético, propiónico y butírico, además de otros AGV's de cadena ramificada, o isoácidos conocidos como ácido isobutírico, ácido isovalérico y ácido 2-metilbutírico, y solo los tres aminoácidos de cadena corta ramificada, valina, leucina e isoleucina. Los AGV's de cadena ramificada son utilizados por las bacterias como factores de crecimiento (Stern *et al.*, 1994). En el rumen,

cierta cantidad de proteína dietaria puede escapar de la digestión ruminal, y pasar al intestino sin modificarse, a ésta se le denomina proteína sobrepasante.

La mayoría de la energía destinada a la síntesis microbiana se deriva de la fermentación de carbohidratos. El tipo de carbohidratos fermentado determinará la cantidad de AGV's y de células microbianas producidas. Para todos los carbohidratos hay una limitación termodinámica de la cantidad de energía producida durante la fermentación anaeróbica, aproximadamente el 6.4% de la energía de los carbohidratos no será disponible para el rumiante, sino que se perderá en las reacciones microbiológicas donde los microorganismos generan ATP para su síntesis proteica (Hungate, 1990).

### **2.2.5 Producción de Gases de Efecto Invernadero**

Los rumiantes son grandes contribuyentes al calentamiento global y deterioro de la capa de ozono, por la liberación de altas cantidades de gases a la atmósfera, entre ellos, el gas carbónico y el metano, siendo este muy significativo por producir entre 15 y 20%; el metano producido se genera principalmente por los procesos fermentativos del alimento que ingresa al rumen. En Costa Rica, se concluyó que la emisión total anual de metano en bovinos, que se produce como consecuencia del consumo y digestión del pasto, independiente de la especie forrajera, varía en función de los días de rebrote. La magnitud de la emisión es diferente según la especie forrajera ofrecida (Montenegro & Abarca, 2002).

La disminución de las emisiones de gases de efecto invernadero a la atmósfera cobra gran importancia en la protección del medio ambiente y además podría generar beneficios económicos. La tasa de emisión de metano por fermentación ruminal, está relacionada con las características físico-químicas de la dieta, las cuales afectan el nivel de consumo y frecuencia de alimentación; una subnutrición contribuye a incrementar las emisiones de metano.

El principal factor biótico a nivel del rumen en la producción de metano son las bacterias anaerobias metanógenas. Estas bacterias utilizan diferentes sustratos para la producción de metano, pero los principales son el H<sub>2</sub> y el CO<sub>2</sub>. La eliminación de estos gases, especialmente del H<sub>2</sub> implican la sustracción de un elemento importante en la estabilidad del pH ruminal siendo este esencial para una óptima fermentación (Carmona *et al.*, 2005). Se considera que la producción de metano es una pérdida de energía potencialmente

utilizable. Los efectos de las bacterias metanógenas son dependientes de los sustratos presentes en la dieta, y de las interacciones con otras poblaciones. Modificar la alimentación ofrecida a los animales, para optimizar el proceso de fermentación ruminal, generalmente mejora los parámetros productivos y reproductivos, debido a que se produce una mejor utilización de la energía.

Las bacterias metanógenas constituyen una clase especial en la población ruminal, por su papel en la regulación de la fermentación total al eliminar  $H_2$ . La reducción de  $CO_2$  e  $H_2$  es el método primario por el que se produce  $CH_4$  en el rumen, sin embargo, algunas bacterias metanógenas como *Methanosarcina barkerii*, utilizan metanol, metilamina y acetato para producir  $CH_4$ . Al mantener baja la concentración de  $H_2$ , mediante la formación de  $CH_4$ , las bacterias metanógenas promueven el crecimiento de otras especies bacterianas y permiten una fermentación más eficaz. La eliminación de  $H_2$  por las especies metanógenas estimula a importantes especies productoras de  $H_2$  tales como, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Selenomonas ruminantium* a producir más  $H_2$  y así alterar su metabolismo hacia vías con mayores rendimientos de energía (Carmona *et al.*, 2005).

La producción de metano es una vía receptora de electrones, en la que la metanogénesis continuamente remueve  $H_2$ , un producto de la fermentación que al acumularse puede disminuir la degradación de la materia orgánica (Weimer, 1998). Se cree que la reducción o eliminación de la metanogénesis, puede requerir el establecimiento de otras rutas receptoras de electrones. Este aspecto se opone a los conceptos tradicionales sobre la ineficiencia de la metanogénesis. La producción de metano, promueve una fermentación más eficaz y mayor rendimiento en la síntesis de ATP, al mantener baja la concentración de  $H_2$ . Esto implica que a mayor rendimiento de ATP, mejor formación de células microbianas con lo que aumenta la proteína disponible para el rumiante (Yokohama & Johnson, 1988).

## CAPÍTULO III

### HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

#### 3.1 HIPÓTESIS

El consumo de dietas a base de residuos postcosecha de *Theobroma cacao* mejora las funciones del rumen y reduce la producción de gases de efecto invernadero en bovinos.

#### 3.2 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la ingestión de dietas a base de residuos postcosecha de *Theobroma cacao* sobre las funciones del rumen y producción de gases de efecto invernadero en bovinos.

#### 3.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto de la ingestión de dietas a base de residuos postcosecha de *Theobroma cacao* sobre la degradación ruminal *in situ* de los nutrientes, nitrógeno amoniacal, ácidos grasos volátiles y pH del rumen en bovinos.
- Determinar la producción de gas *in vitro* en bovinos consumiendo dietas a base de residuos postcosecha de *Theobroma cacao*.



## CAPÍTULO IV

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 4.1 UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

La presente investigación se llevó a cabo en la Granja experimental y Laboratorios de la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias, ubicada en la provincia de Tungurahua, cantón Cevallos, sector Querochaca, a una altitud de 2.865 msnm, con las siguientes coordenadas geográficas 1°25'0" Sur (latitud), 78°36'0" Oeste (longitud).

#### 4.2 CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR

La Granja experimental donde se realizó la investigación presenta humedad de 91%, temperaturas máximas de 20°C y mínima de 07°C, además pluviosidad de 517.8 mm media anual y lluvias en los meses de septiembre, octubre y noviembre. (INAMHI, 2015).

#### 4.3 ANIMALES, ALOJAMIENTO, ALIMENTACIÓN Y TRATAMIENTOS

Se utilizaron seis bovinos machos castrados, cruce de Holstein, de 2 años de edad aproximadamente, con un peso inicial promedio de 293,67 kg, provistos de una cánula ruminal permanente, y alojados en un establo de cemento con techo de tejas y piso de cemento, además el piso fue cubierto con pastos secos; los toros se ubicaron de forma aleatoria e individual con comederos y bebederos independientes y acceso a alimento y agua *ad libitum*.

La alimentación proporcionada durante el proceso investigativo fue una dieta balanceada formulada a partir de los requerimientos nutricionales para toros castrados de aproximadamente 300kg de peso vivo (AFRC, 1880). Se suministró las dietas base más tres tratamientos distintos, dos con diferentes niveles de inclusión de cascara o mazorca de cacao, previamente secado y molido, para obtener harina (Tabla 3); las dietas fueron diferenciadas como tratamientos **D1** con 0% de harina de cascara de cacao, tratamiento **D2**

con 15% de harina de cascara de cacao y tratamiento **D3** con 30% de harina de cascara de cacao. La alimentación se realizó a las 09:00 a.m. y 02:00 p.m.

**Tabla 3.** Composición química de las Dietas integrales a base de *Theobroma cacao*. Composición química de la Dieta (kg/MS excepto donde indica lo contrario)

| INGREDIENTES               | TRATAMIENTOS |        |        |
|----------------------------|--------------|--------|--------|
|                            | T0           | T1     | T2     |
| Palmiste                   | 23,59        | 15,62  | 10,74  |
| Afrecho                    | 24,20        | 26,67  | 14,44  |
| Alfarina                   | 13,44        | 11,68  | 17,30  |
| Maíz                       | 18,82        | 14,63  | 12,53  |
| Cacao                      | 00,00        | 15,11  | 30,08  |
| Melaza                     | 09,41        | 8,26   | 07,76  |
| Aceite de palma            | 08,20        | 5,72   | 04,77  |
| Sal                        | 1,17         | 1,16   | 01,19  |
| V+m                        | 1,17         | 1,16   | 01,19  |
| Total                      | 100,00       | 100,00 | 100,00 |
| <b>COMPOSICIÓN QUÍMICA</b> |              |        |        |
| PC %                       | 15,0         | 15,7   | 15,9   |
| MS %                       | 88,5         | 91,4   | 91,0   |
| MO %                       | 92,2         | 91,8   | 91,2   |
| FDN %                      | 43,4         | 46,0   | 46,0   |
| FDA %                      | 22,9         | 25,3   | 29,6   |
| CENIZAS %                  | 7,7          | 8,7    | 9,1    |

MS: materia seca, PC: proteína cruda, MO: materia orgánica, FDN: fibra detergente neutra, FDA: fibra detergente ácida, T0: Tratamiento testigo con 0%, T1: Dieta con 15% de harina de cascara de cacao, T2: Dieta con 30% de harina de cascara de cacao.

#### 4.4 VARIABLES RESPUESTA

**Degradación ruminal de nutrientes *in vivo*:** para este análisis las muestras utilizadas fueron previamente tamizadas en mallas de 0.1mm, 0.3mm y 0.6mm; el peso de cada muestra fue de 0.500g mínimo y máximo 0.530g, con el fin de garantizar que el líquido ruminal pueda entrar fácilmente y mezclarse. Se usó la técnica de la bolsa de nylon en el rumen descrita por Ørskov, Hovell, & Mould (1980), la cual se basó en utilizar bolsas de fibra artificial de nylon, que tienen la ventaja de dar una estimación muy rápida de la tasa y extensión de la degradación del pienso en el rumen; el tamaño de las bolsas fue de 140mm de alto y 90mm de ancho, siendo una bolsa suficientemente pequeña para ser retirada fácilmente a través de la cánula ruminal, y por otro lado lo adecuadamente grande en relación con el tamaño de muestra utilizada,. Las bolsas con las muestras fueron pesadas, etiquetadas, selladas y ubicadas en una bolsa de malla grande la cual estaba provista de un cordón lo suficientemente largo para permitir que se mantengan las muestras en la zona ventral del rumen y posteriormente ser extraídas (Rodríguez, 1968). Los tratamientos

fueron incubados a las 3, 6, 12, 24, 48 y 72 horas; a las 72 horas fueron retirados y lavados varias veces con agua corriente fría hasta obtener solo la base del sustrato, a estas bolsas se adiciono muestras sin incubar para medir pérdidas por lavado, una vez concluido el lavado se procedió a secar las muestras a 60 °C, por 48 horas. Los residuos se almacenaron en bolsas de polietileno a -4 °C hasta su posterior análisis en el laboratorio. La pérdida de los nutrientes fue calculada como una proporción del material incubado y residual. Los datos se ajustaron a la ecuación:  $Y = a + b(1 - e^{-ct})$  y la degradación efectiva se ajustó mediante la ecuación  $DE = a + [(b*c)/(c + k)]$  considerando una tasa de pasaje (k) de 0.02, 0.05 y 0.08% (Ørskov & McDonald, 1979; Prisma 4, GraphPad Software, Inc. de San Diego, CA, USA.).

**Consumo Voluntario:** se realizó mediante la técnica directa, es decir alimento ofrecido menos alimento rechazado, cada 24 horas; se colocó cada dieta de manera aleatoria a los bovinos, tomando en cuenta el diseño experimental de bloques completamente al azar, durante los tres periodos experimentales; en los 5 días de muestreo se procedió a pesar el alimento restante de cada comedero independientemente.

**pH Ruminal:** para el monitoreo del pH se procedió a abrir las tapas de las cánulas ruminales, se retiró líquido ruminal de la zona ventral del rumen, e inmediatamente se introdujo un Medidor de pH marca Bante, modelo 221, serie 141016-030; se consideró como lectura válida al valor que se mantuvo constante por 10 s. El equipo previamente fue calibrado usando las soluciones tampón de pH 4, 7 y 10. Los datos se obtuvieron dos días durante el cada periodo de muestreo (15 días de adaptación y 5 días de muestreo), en cuatro tiempos, antes y después de alimentar a los bovinos, a las 08:00, 10:00, 12:00 y 16:00 horas.

**Nitrógeno Amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) y Ácidos Grasos Volátiles (AGVs):** durante el primer periodo experimental se recolecto muestras después de alimentar a los a los sujetos experimentales, a las 12:00 horas, en los días 1, 3 y 5 de muestreo. Las muestras fueron llevadas al laboratorio luego de su colecta, y se las filtró usando gasas; se midió 10 ml de muestra filtrada y se mezcló con 10 ml de HCL al 5% en un frasco falcón, para luego ser almacenadas a 4°C, hasta analizar el N-NH<sub>3</sub>, de igual manera se tomó 10 ml de líquido ruminal y se mezcló con 2.5 ml de ácido metafosfórico al 25 % en un frasco falcom para ser almacenado a 4°C hasta el análisis de los AGVs. El procedimiento se repitió durante los

dos siguientes periodos experimentales, sin embargo los tiempos de recolección variaron, de la siguiente manera, para análisis de N-NH<sub>3</sub> se tomó dos muestras el día 1 y 3 de muestreo a las 12 horas, mientras que para los análisis de AGVs se recolectó muestras el día 4 a las 7:00 horas, antes de alimentar a los sujetos de experimentación, y a las 12:00 horas. Los AGVs se determinaron de acuerdo a la metodología descrita por Ryan (1980) usando un cromatógrafo de gases. El N-NH<sub>3</sub> se determinó con una técnica colorimétrica usando un espectrofotómetro según la metodología descrita por Barros *et al.* (2015).

**Producción de gas *in vitro*:** para este análisis se usó la técnica de Theodorou *et al.* (1994) con algunas modificaciones para incubación en frascos. Con este método se determinó la cantidad de gas producido mediante la incubación de los tratamientos investigados en un periodo de 96 horas. La cantidad de gas liberado es proporcional a la cantidad del alimento degradado, en este caso los tratamientos. Se pesó 0.500g a 0.530g de cada tratamiento y se los introdujo en frascos ámbar con capacidad de 100ml; un día antes de la evaluación se formuló la saliva artificial a base de un amortiguador de bicarbonato y fosfato, un agente reductor, una fuente de nitrógeno, varios minerales y resarzurina; se utilizó CO<sub>2</sub> durante la preparación del medio para asegurar un ambiente anaerobio al momento de la incubación. Se recolecto fluido ruminal 15 minutos antes de iniciar la prueba, previo a la alimentación de los bovinos, ya que los microorganismos son menos activos pero más consistentes en su composición y actividad (Blümmel & Ørskov, 1993). El líquido ruminal recolectado fue puesto en recipientes con agua caliente a una temperatura de 39 a 40°C, para mantenerlo a temperatura ruminal, posteriormente fue filtrado; se colocó 60 ml del inóculo en una relación 2 saliva artificial: 1 líquido ruminal, luego se sellaron los frascos y se incubaron las muestras a 39–40°C, con agitación continua, para simular los movimientos ruminales. Las lecturas de la presión de gas y el volumen se hicieron a las 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72 y 96 horas, con un transductor de presión (DO 9704, Delta OHM, Italia) y jeringas plásticas, mediante la punción de los frascos. Se analizaron 6 frascos por tratamiento y por líquido ruminal de las tres dietas suministradas, en cada tiempo y tres botellas adicionales se usaron como blancos. Al finalizar las mediciones se procedió a ajustar los datos mediante la ecuación:  $\text{ml GAS} = \text{GV} (1 + (\text{B}/\text{t})^{\text{C}})^{-1}$  descrita por Groot *et al.* (1996).

**Análisis químicos:** la Materia Seca y ceniza fue determinada según la metodología descrita por AOAC (1990). La Fibra Detergente Neutra y la Fibra Detergente Ácida se

determinaron mediante el analizador Ankom <sup>2000</sup> Technology. La proteína cruda se determinó mediante análisis elemental de N usando un LECO 628 de LECO corporation.

#### **4.5 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

Se realizó un diseño de cuadrado latino repetido, utilizando como factor de bloqueo el tiempo (periodos experimentales); la investigación consto de tres periodos experimentales, con 15 días de adaptación y 5 días de muestreo, en los cuales las variables consumo de alimento voluntario, medición de pH, producción de AGVs y N-NH<sub>3</sub>, se analizaron mediante el PROC-GLM-SAS y la comparación de medias se analizó mediante la prueba de Tukey, adicionando contrastes ortogonales para observar el efecto entre los tratamientos de todas las variables (SAS, 2009). La degradación ruminal *in situ* de los nutrientes se analizó en el Prisma 4, GraphPad Software, Inc. de San Diego, CA, USA., al igual que la producción de gas *in vitro*, donde se adiciono un arreglo factorial de 3 x 3 (líquido ruminal x dietas).

## CAPÍTULO V

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 5.1 Consumo Voluntario

El consumo Voluntario de MS, MO, PC y FDN fue mayor ( $P < 0.05$ ) en los tratamientos D2 y D3. Con respecto al consumo de FDA fue mayor ( $P < 0.0001$ ) en el D3, mostrando una respuesta lineal ( $P < 0.0001$ ) a la incorporación de cascara de cacao a las dietas. El consumo MS y MO por  $PV^{0.75}$  no mostró diferencias entre los tratamientos (Tabla 4.)

**Tabla 4.** Consumo voluntario (g/Kg MS excepto donde se muestra lo contrario) de dietas con niveles de *Theobroma cacao*.

|  | Tratamientos |         |        | SEM   | P      | Contrastes |        |
|--|--------------|---------|--------|-------|--------|------------|--------|
|  | D1           | D2      | D3     |       |        | L          | C      |
| <b>Consumo Voluntario</b>                        |              |         |        |       |        |            |        |
| MS   | 11.68b       | 12.50ab | 13.31a | 0.352 | 0.0174 | 0.0051     | 1.0000 |
| MO   | 10.76b       | 11.45ab | 12.13a | 0.319 | 0.0281 | 0.0085     | 0.0281 |
| PC   | 1.75b        | 1.95a   | 2.11a  | 0.051 | 0.0006 | 0.0001     | 0.7950 |
| FDN  | 5.05b        | 5.75a   | 6.11a  | 0.161 | 0.0011 | 0.0003     | 0.4137 |
| FDA  | 2.68c        | 3.16b   | 3.93a  | 0.089 | <.0001 | <.0001     | 0.2140 |
| <b>Consumo voluntario <math>PV^{0.75}</math></b> |              |         |        |       |        |            |        |
| MS   | 0.166a       | 0.177a  | 0.190a | 0.008 | 0.2070 | 0.0810     | 0.9452 |
| MO   | 0.153a       | 0.163a  | 0.173a | 0.008 | 0.2650 | 0.1091     | 0.9539 |

a,b,c Medias dentro de una columna seguida por la misma letra no son significativamente diferentes en  $P=0.05$ . Consumo Voluntario  $PV^{0.75}$ : Consumo Voluntario por kilo metabólico D1: Dieta control, D2: Dieta con 15% de harina de cáscara de cacao (*Theobroma cacao*), D3: Dieta con 30% de harina de cascara de cacao (*Theobroma cacao*). SEM: error estándar de la media.

Los resultados obtenidos en el consumo voluntario de nutrientes (Tabla 3) se dieron debido posiblemente a que los residuos postcosecha de cacao utilizado para elaborar las dietas, son de la variedad de cacao fino de aroma, propia del Ecuador, el cual tiene un aroma intenso y sabor agradable. Esta característica pudo influir al mayor consumo en los tratamientos D2 y D3 (Murillo & Quilambaqui, 2008). Estos resultados son consistentes con los reportados por Magistrelli *et al.* (2016).

## 5.2 pH ruminal, Amoniac y Ácidos Grasos Volátiles

El pH ruminal antes de alimentar 0h y hasta las 8h posterior a la alimentación no mostró diferencias entre los tratamientos ( $P>0.05$ ) (Tabla 5). Estos resultados se dieron debido a que todas las dietas contenían altas cantidades de carbohidratos no estructurales (almidón), lo cual mantuvo un pH estable característico de este tipo de dietas (Bargo *et al.*, 2002). En este sentido, Mould, Ørskov, & Mann (1983) mencionan que las dietas para rumiantes con elevado contenido de carbohidratos, reducen la digestión de la fibra, debido a la fermentación microbiana de los carbohidratos no estructurales, lo que genera un pH ruminal por debajo de 6 y disminuye la actividad celulolítica, formando un ambiente ruminal desfavorable para la degradabilidad de la fibra dietaria consumida, pero óptimo para los microorganismos ruminales amilolíticos lo que favorece la degradación de carbohidratos no estructurales y con ello, la formación de ácido propiónico en el rumen (Arias *et al.*, 2013). Algo observado en esta investigación. Estos resultados son consistentes a los reportados por Cerrato, Calsamiglia, & Ferret (2005).

El nitrógeno amoniacal ( $N-NH_3$ ) no mostró diferencias entre tratamientos ( $P=0.0691$ ) (Tabla 5). Esto posiblemente a las dietas iso-proteicas y similar pH ruminal lo cual prolifera microorganismos tanto amilolíticos como proteolíticos en el rumen, esto pudo dar como resultado niveles de amoniac dentro de lo normal para este tipo de dietas (Aschenbach *et al.*, 2010). Resultados similares reportan Bargo *et al.* (2003).

Con respecto a los AGVs, el ácido acético antes de alimentar (0h) fue mayor ( $P=0.0106$ ) en los tratamientos D1 y D2 mostrando una respuesta lineal ( $P=0.0053$ ) descendente al incremento de cascara de cacao en las dietas. Después a la alimentación (5h) se observó una respuesta cuadrática ( $P<0.0001$ ) obteniendo la mayor ( $P<0.0001$ ) concentración los tratamientos D1 y D3. El ácido propiónico antes de alimentar (0h) no mostró diferencias entre los tratamientos evaluados ( $P=0.1528$ ), sin embargo, a las 5h post alimentación se observó una respuesta cuadrática ( $P<0.0001$ ) siendo mayor el D2 frente a los demás tratamientos ( $P<0.0001$ ). El ácido butírico antes y después (0h) de alimentar (5h) no mostró diferencias entre tratamientos ( $P>0.05$ ). Con respecto al ratio acético/propiónico antes de alimentar (0h) fue mayor ( $P=0.0256$ ) en el D1 y D2, observándose un efecto lineal ( $P=0.0083$ ) descendente al incremento de cascara de cacao en las dietas, sin embargo, a las 5h fue mayor en los tratamientos D1 y D3 (Tabla 5).

Los resultados obtenidos en el D2 fue debido posiblemente al contenido de grasa insaturada que posee la cascara de cacao (Brenes, 1990; Valladares, 2017) la cual influye en la formación de energía a través del ácido propiónico en el rumen, algo observado en esta investigación (Tabla 5). Estos resultados son consistentes a los reportados por Valladares, (2017). Con respecto al D3 se dio debido posiblemente a que el 30 % de cascara de cacao proporcionó mayor fibra insoluble (Tabla 3), lo que propiciaría menor degradación (Tabla 8 y 9) y formación de ácido acético. Estos resultados son similares a los reportados por Calsamiglia (1997)

**Tabla 5.** Fermentación ruminal antes (0 h) y después de la alimentación con Dietas que contienen 0, 15 y 30% de harina de cascara de cacao (*Theobroma cacao*)

|                          | Toros alimentados con |         |         | SEM   | Valor P | Contrastes |        |
|--------------------------|-----------------------|---------|---------|-------|---------|------------|--------|
|                          | D1                    | D2      | D3      |       |         | L          | C      |
| Ph                       |                       |         |         |       |         |            |        |
| 0 h                      | 6.068a                | 6.141a  | 6.058a  | 0.184 | 0.9410  | 0.9699     | 0.7331 |
| 2 h                      | 5.425a                | 5.406a  | 5.288a  | 0.123 | 0.7016  | 0.4448     | 0.7448 |
| 4 h                      | 5.245a                | 5.255a  | 5.181a  | 0.087 | 0.8142  | 0.6147     | 0.7016 |
| 8 h                      | 5.346a                | 5.343a  | 5.203a  | 0.117 | 0.6271  | 0.4035     | 0.6429 |
| N-NH <sub>3</sub> (mg/l) |                       |         |         |       |         |            |        |
| 5 h                      | 26.94a                | 26.83a  | 26.10a  | 1.24  | 0.0691  | 0.1125     | 0.2648 |
| Rumen VFA (molar %)      |                       |         |         |       |         |            |        |
| Ácido acético (A)        |                       |         |         |       |         |            |        |
| 0 h                      | 51.823a               | 51.651a | 50.541b | 0.278 | 0.0106  | 0.0053     | 0.1889 |
| 5 h                      | 49.451a               | 46.188b | 49.346a | 0.267 | <.0001  | 0.7852     | <.0001 |
| Ácido propiónico (P)     |                       |         |         |       |         |            |        |
| 0 h                      | 34.236a               | 34.763a | 35.011a | 0.270 | 0.1528  | 0.0612     | 0.6808 |
| 5 h                      | 37.183b               | 40.283a | 37.216b | 0.283 | <.0001  | 0.9346     | <.0001 |
| Ácido butírico           |                       |         |         |       |         |            |        |
| 0 h                      | 10.328a               | 10.496a | 11.120a | 0.318 | 0.2134  | 0.0992     | 0.5684 |
| 5 h                      | 10.781a               | 11.108a | 10.593a | 0.284 | 0.4518  | 0.6466     | 0.2460 |
| Isobutírico              |                       |         |         |       |         |            |        |
| 0 h                      | 1.420a                | 1.406a  | 1.302b  | 0.025 | 0.0108  | 0.0057     | 0.1759 |
| 5 h                      | 1.322b                | 1.422a  | 1.354ab | 0.023 | 0.0236  | 0.3441     | 0.0097 |
| Isovalérico              |                       |         |         |       |         |            |        |
| 0 h                      | 1.252a                | 1.130a  | 1.206a  | 0.034 | 0.0732  | 0.3652     | 0.0348 |
| 5 h                      | 1.312a                | 1.240a  | 1.110b  | 0.027 | 0.0004  | 0.0001     | 0.4095 |
| Valérico                 |                       |         |         |       |         |            |        |
| 0 h                      | 0.984a                | 0.934ab | 0.912b  | 0.018 | 0.0408  | 0.0147     | 0.5454 |
| 5 h                      | 0.950a                | 0.980a  | 1.022a  | 0.022 | 0.1018  | 0.0362     | 0.8278 |
| Ratio A/P                |                       |         |         |       |         |            |        |
| 0 h                      | 1.511a                | 1.486ab | 1.443b  | 0.015 | 0.0256  | 0.0083     | 0.6446 |
| 5 h                      | 1.330a                | 1.148b  | 1.330a  | 0.007 | <.0001  | 1.0000     | <.0001 |

a,b,c Medias dentro de una columna seguida por la misma letra no son significativamente diferentes en P=0.05. D1: Dieta control, D2: Dieta con 15% de harina de cascara de cacao (*Theobroma cacao*), D3: Dieta con 30% de harina de cascara de cacao (*Theobroma cacao*). SEM: error estándar de la media.



### 5.3 Producción de Gas *in vitro*

La producción de gas *in vitro* en mL gas/0.500g MS y MO fermentable se observó un efecto del líquido ruminal ( $P < 0.0001$ ) así como, de las dietas ( $P = 0.0002$ ) obteniendo la menor ( $P > 0.05$ ) producción de gas (PG) las dietas (D1, D2 y D3) que se incubaron en el líquido ruminal de los animales que consumían la dieta D2, algo observado desde el inicio de la fermentación (3h hasta la 96h) (Tabla 6 y 7).

La menor producción de gas *in vitro* observada en este estudio pudo deberse a la mayor producción de ácido propiónico que se produjo a partir del consumo de las dietas con 15% de cascara de cacao (Tabla 5). Además, el ácido oleico y glicerol que posee la cascara de cacao (Martin *et al.*, 2010) redujo la producción de gas debido a que los ácidos grasos son utilizados por las bacterias ruminales como un proceso de biohidrogenación ruminal como mecanismo que se torna relevante para la captación de  $H_2$  a nivel ruminal, evitando así que gran parte del  $H_2$  sea utilizado por los microorganismos metanogénicos (Jalč, D., Kišidayová, S., & Nerud, F., 2002).

También se ha evidenciado que los ácidos grasos poliinsaturados tienen un efecto tóxico sobre las poblaciones metanogénicas (Dohme *et al.*, 2000; Patra, A., & Yu, Z., 2013; Pirondini *et al.*, 2015). Estos resultados son consistentes a los reportados por Cieslak *et al.* (2006).

**Tabla 6.** Parámetros *in vitro* de Producción de Gas (ml/0.5 g MS) Como efecto de la adición de Dietas que contienen harina de cascara de cacao (Theobroma cacao)

| Líquido ruminal de toros alimentados con | Dietas incubadas | mL/0.5 g MS degradada           |         |         |  |         |         |         |         |         |         |         |          |  |
|--|------------------|---------------------------------|---------|---------|--|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|--|
|  |                  | Parámetros de producción de gas |         |         | Horas de producción de gas <i>in vitro</i> |         |         |         |         |         |         |         |          |  |
|  |                  | PG                              | B       | C       | 3  | 6       | 9       | 12      | 18      | 24      | 48      | 72      | 96       |  |
| D1                                       | D1               | 386,4ab                         | 16,0a   | 1,0ef   | 56,8cd                                     | 99,8de  | 137,9bc | 173,6b  | 205,3b  | 234,6bc | 284,6bc | 320,6bc | 335,0cd  |  |
|  | D2               | 403,4a                          | 16,4a   | 0,9fg   | 65,0ab                                     | 105,8cd | 143,7b  | 178,9b  | 211,6b  | 241,2b  | 294,0b  | 329,0b  | 342,9abc |  |
|  | D3               | 400,7a                          | 16,5a   | 0,9g    | 70,8a                                      | 108,7bc | 144,2b  | 177,4b  | 208,3b  | 237,8b  | 288,9bc | 321,6bc | 334,0cd  |  |
| D2                                       | D1               | 347,5d                          | 13,5bc  | 1,1bc   | 51,2de                                     | 95,2ef  | 132,0cd | 167,8bc | 201,9bc | 231,1bc | 279,7bc | 305,8c  | 315,5de  |  |
|  | D2               | 371,7bcd                        | 15,4ab  | 1,1cde  | 49,9e                                      | 96,0ef  | 132,0cd | 165,8bc | 199,2bc | 231,3bc | 287,6bc | 316,6bc | 327,6cde |  |
|  | D3               | 360,9cd                         | 16,6a   | 1,0def  | 49,7e                                      | 90,1f   | 124,7d  | 157,4c  | 187,6c  | 216,6c  | 269,8c  | 299,7c  | 311,4e   |  |
| D3                                       | D1               | 379,0abc                        | 10,5d   | 1,3a    | 63,1b                                      | 118,3a  | 167,2a  | 211,8a  | 251,9a  | 286,0a  | 334,4a  | 352,5a  | 358,8ab  |  |
|  | D2               | 399,3a                          | 12,7c   | 1,2b    | 61,7bc                                     | 114,1ab | 157,7a  | 198,5a  | 236,8a  | 273,6a  | 332,7a  | 355,8a  | 364,9a   |  |
|  | D3               | 384,5ab                         | 14,9ab  | 1,1cd   | 55,0de                                     | 98,8de  | 140,7bc | 176,9b  | 210,9b  | 243,5b  | 299,8b  | 329,6b  | 341,1bc  |  |
| SEM                                      |                  | 5.54                            | 0.43    | 0.020   | 1.27                                       | 1.71    | 2.29    | 2.90    | 3.62    | 4.18    | 4.98    | 4.9     | 4.98     |  |
| Valor P                                  |                  | <0,0001                         | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001                                    | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001  |  |
| Lineal                                   |                  | 0,0186                          | <0,0001 | <0,0001 | 0,1605                                     | 0,0006  | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | 0,0019  | 0,0243  | 0,0627   |  |
| Cuadrático                               |                  | 0,0004                          | 0,6304  | 0,5498  | 0,2341                                     | 0,0063  | 0,0426  | 0,0867  | 0,0633  | 0,0207  | 0,0015  | 0,0010  | 0,0007   |  |
| Líquido ruminal                          |                  | <0,0001                         | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001                                    | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001  |  |
| Dietas                                   |                  | 0,0002                          | <0,0001 | <0,0001 | 0,1862                                     | 0,0001  | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | 0,0001  | 0,0006  | 0,0008   |  |
| Líquido ruminal x Dietas                 |                  | 0,8061                          | 0,0011  | 0,0065  | <0,0001                                    | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | 0,0001  | 0,0062  | 0,1522  | 0,4155   |  |

a,b,c Medias dentro de una columna seguida por la misma letra no son significativamente diferentes en P=0.05. D1: Dieta control, D2: Dieta con 15% de harina de cáscara de cacao, D3: Dieta con 30% de harina de cáscara de cacao. SEM: error estándar de la media. GV, B and C<sub>SEM</sub> son parámetros de la ecuación ml gas = GV (1 + (B/t)C)<sup>-1</sup> (Groot *et al.*, 1996), TAD: toros alimentados con las distintas dietas

**Tabla 7.** Parámetros *in vitro* de producción de gas (ml/0.5 g MO) Como efecto de la adición de Dietas que contienen harina de cáscara de cacao (*Theobroma cacao*)

| Líquido ruminal de toros alimentados con | Dietas incubadas | mL/0.5 g MS degradada           |         |         |  |         |          |         |         |         |         |         |          |  |
|--|------------------|---------------------------------|---------|---------|--|---------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|--|
|  |                  | Parámetros de producción de gas |         |         | Horas de producción de gas <i>in vitro</i> |         |          |         |         |         |         |         |          |  |
|  |                  | PG                              | B       | C       | 3  | 6       | 9        | 12      | 18      | 24      | 48      | 72      | 96       |  |
| D1                                       | D1               | 392,5ab                         | 16,0a   | 1,0de   | 57,7cd                                     | 101,4de | 140,1bcd | 176,4b  | 208,6b  | 238,4bc | 289,1bc | 325,6bc | 340,3cd  |  |
|  | D2               | 409,5a                          | 16,6a   | 0,9ef   | 66,8ab                                     | 107,2cd | 145,1bc  | 180,3b  | 213,7b  | 243,5b  | 297,8b  | 332,5b  | 346,2bc  |  |
|  | D3               | 405,1ab                         | 16,5a   | 0,9f    | 71,6a                                      | 110,0bc | 145,8b   | 179,4b  | 210,6b  | 240,5b  | 292,1bc | 325,2bc | 337,8cd  |  |
| D2                                       | D1               | 353,0d                          | 13,5bc  | 1,1bc   | 52,0de                                     | 96,7ef  | 134,1de  | 170,5bc | 205,1bc | 234,7bc | 284,1bc | 310,7bc | 320,5de  |  |
|  | D2               | 379,9bc                         | 15,4ab  | 1,1cd   | 51,0e                                      | 98,2ef  | 134,9cde | 169,5bc | 203,5bc | 236,3bc | 293,9bc | 323,5bc | 334,8cde |  |
|  | D3               | 364,9cd                         | 16,6a   | 1,0de   | 50,3e                                      | 91,2f   | 126,1e   | 159,2c  | 189,7c  | 219,1c  | 272,8c  | 303,0c  | 314,9e   |  |
| D3                                       | D1               | 385,0abc                        | 10,5d   | 1,3a    | 64,1b                                      | 120,2a  | 169,8a   | 215,1a  | 255,9a  | 290,5a  | 339,7a  | 358,0a  | 364,5ab  |  |
|  | D2               | 408,0a                          | 12,7c   | 1,2b    | 63,0bc                                     | 116,6ab | 161,2a   | 202,8a  | 242,0a  | 279,6a  | 340,1a  | 363,6a  | 372,9a   |  |
|  | D3               | 388,8abc                        | 14,9ab  | 1,1cd   | 55,7de                                     | 99,9de  | 142,3bcd | 178,9b  | 213,2b  | 246,2b  | 303,2b  | 333,3b  | 344,9bc  |  |
| SEM                                      |                  | 5.56                            | 0.43    | 0.02    | 1.30                                       | 1.73    | 2.31     | 2.91    | 3.65    | 4.21    | 5.05    | 4.92    | 4.88     |  |
| Valor P                                  |                  | <0,0001                         | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001                                    | <0,0001 | <0,0001  | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001  |  |
| Lineal                                   |                  | 0,0436                          | <0,0001 | <0,0001 | 0,2516                                     | 0,0002  | <0,0001  | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | 0,0007  | 0,0092  | 0,0250   |  |
| Cuadrático                               |                  | 0,0001                          | 0,5059  | 0,4396  | 0,0668                                     | 0,0016  | 0,0178   | 0,0424  | 0,0275  | 0,0081  | 0,0004  | 0,0002  | 0,0002   |  |
| Líquido ruminal                          |                  | <0,0001                         | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001                                    | <0,0001 | <0,0001  | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001  |  |
| Dietas                                   |                  | 0,0001                          | <0,0001 | <0,0001 | 0,0987                                     | <0,0001 | <0,0001  | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | 0,0001  | 0,0001   |  |
| Líquido ruminal x Dietas                 |                  | 0,6769                          | 0,0011  | 0,0074  | <0,0001                                    | <0,0001 | <0,0001  | <0,0001 | <0,0001 | 0,0001  | 0,0045  | 0,0958  | 0,2571   |  |

<sup>a,b,c</sup> Medias dentro de una columna seguidas <0,0001 por la misma letra no son significativamente diferentes en P=0.05. D1: Dieta control, D2: Dieta con 15% de harina de cáscara de cacao, D3: Dieta con 30% de harina de cáscara de cacao. SEM: error estándar de la media. GV, B and C<sub>30</sub> son parámetros de la ecuación ml gas = GV (1 + (B/t)<sup>C</sup>)<sup>-1</sup> (Groot *et al.*, 1996), TAD: toros alimentados con las distintas dietas.

#### 5.4 Cinética de degradación ruminal *in situ*

Los resultados obtenidos en la Cinética de degradación ruminal *in situ* de la MS, que podemos observar en la Tabla 8, determinaron el efecto del líquido ruminal de los bovinos alimentados con las tres dietas sobre los tres tratamientos incubados *in situ*, dando como respuesta la mayor degradación ruminal en su fracción A la cual representa la fracción soluble de las dietas ( $P=0,0100$ ), se observa en los TAD1 (TAD1:Toros alimentados con la dieta 1 con 0% de harina de cascara de cacao), sobre la D1 y D2 incubadas, pero significativamente alta sobre el tratamiento D1, en cuanto a la fracción B (tiempo de colonización bacteriana) se mantuvo constante, mientras que en la fracción C (tasa de degradación en porcentaje por hora) se obtuvo el mayor resultado en los TAD2, especialmente en la D1 incubada. Con respecto a la degradación ruminal efectiva de la MS ( $k$ ;  $0,08 \text{ h}^{-1}$ ,  $0,05 \text{ h}^{-1}$ ,  $0,02 \text{ h}^{-1}$ ), los resultados presentaron una degradación efectiva significativa en los TAD1 y TAD2, sobre la D1 incubada principalmente. En cuanto a las horas de degradación ruminal, se generó mayor degradación en los TAD1, sobre la D1 incubada en las horas 3, 6, 12 y 72, y en las horas 24 y 48 la mayor degradación fue en los TAD2, sobre la D1 incubada.

En la Tabla 9, podemos observar que la mayor degradación ruminal *in situ* de la MO, en su fracción A ( $P=0,0008$ ), se encontró en los TAD1 y TAD2, principalmente sobre la D1 incubada, mientras que en la degradación ruminal efectiva de la MO ( $k$ ;  $0,08 \text{ h}^{-1}$ ,  $0,05 \text{ h}^{-1}$ ,  $0,02 \text{ h}^{-1}$ ), los resultados fueron representativamente altos en los TAD2, sobre la D1 en las  $0,08 \text{ h}^{-1}$ ,  $0,05 \text{ h}^{-1}$ , y en la  $0,02 \text{ h}^{-1}$  se presentó la mayor degradación en los TAD1 sobre la D1 incubada. Con respecto a las horas de degradación ruminal, se presentó mayor degradación en los TAD1, sobre la D1 incubada en las horas 6, 12, 48 y 72, y en las horas 3 y 24 la mayor degradación fue en los TAD2, sobre la D1 incubada.

Los resultados de degradación *in situ* reflejan una mayor fermentación durante las primeras horas de degradación, lo que es común en dietas ricas en carbohidratos, como es la D2 y D3, donde se inicia sintetizando los nutrientes más fácilmente digeribles como son los carbohidratos solubles en el rumen (Groot *et al.*, 1996). La fuente de carbohidratos de la dieta influye en la proporción de AGV's ruminales, y a su vez el tipo de AGV's formados afecta sobre la cantidad de gas generado y energía en forma de ATP (Hungate, 1990).

**Tabla 8.** Parámetros de degradación ruminal de Materia seca de Dietas que contiene 0, 15 y 30 % de harina de cáscara de cacao (*Theobroma cacao*)

| Toros alimentados con | Dietas incubadas | Parámetros de degradación ruminal |        |        |         | Degradación ruminal efectiva (k-values h-1) |          |          | Horas de degradación en el rumen |          |         |          |         |          |
|-----------------------|------------------|-----------------------------------|--------|--------|---------|---|----------|----------|----------------------------------|----------|---------|----------|---------|----------|
|                       |                  | A                                 | B      | C      | A+B     | 0.08 h-1                                    | 0.05 h-1 | 0.02 h-1 | 3                                | 6        | 12      | 24       | 48      | 72       |
| TAD1                  | D1               | 385,0a                            | 270,5a | 0,05ab | 655,5a  | 483,7a                                      | 512,7a   | 568,1a   | 421,5a                           | 443,8a   | 520,2a  | 553,7ab  | 607,8ab | 638,7a   |
|                       | D2               | 362,7ab                           | 242,2a | 0,05ab | 605,0ab | 449,4abcd                                   | 476,2abc | 528,2bc  | 387,0ab                          | 429,9abc | 464,1bc | 517,4abc | 566,8bc | 596,7bcd |
|                       | D3               | 338,4b                            | 235,9a | 0,05ab | 574,3b  | 429,2d                                      | 455,8c   | 505,5c   | 373,2b                           | 399,2abc | 444,9c  | 505,4bc  | 541,4c  | 570,0d   |
| TAD2                  | D1               | 352,4ab                           | 284,2a | 0,07a  | 636,6ab | 478,4ab                                     | 510,5a   | 566,5a   | 407,0ab                          | 435,9ab  | 513,8a  | 569,0a   | 612,3a  | 634,8a   |
|                       | D2               | 347,4ab                           | 256,2a | 0,05ab | 603,6ab | 440,4cd                                     | 468,7bc  | 523,5c   | 381,1b                           | 405,0abc | 466,5bc | 509,3abc | 569,8bc | 591,0bcd |
|                       | D3               | 336,4b                            | 250,9a | 0,04ab | 587,4ab | 423,6d                                      | 451,0c   | 505,0c   | 370,6b                           | 388,5c   | 440,5c  | 495,8bc  | 547,0c  | 572,5d   |
| TAD3                  | D1               | 360,1ab                           | 272,1a | 0,06ab | 632,2ab | 470,7abc                                    | 502,0ab  | 558,6ab  | 399,0ab                          | 438,3ab  | 496,1ab | 555,1ab  | 607,5ab | 628,3ab  |
|                       | D2               | 363,4ab                           | 293,6a | 0,03ab | 657,1a  | 442,5bcd                                    | 470,5bc  | 532,0bc  | 385,0ab                          | 414,5abc | 459,6bc | 509,8abc | 564,9c  | 612,3abc |
|                       | D3               | 356,9ab                           | 275,4a | 0,03b  | 632,4ab | 423,2d                                      | 448,9c   | 508,3c   | 373,7b                           | 398,7bc  | 435,4c  | 477,5c   | 545,2c  | 583,3cd  |
| SEM                   |                  | 8.6                               | 14.57  | 0.01   | 15.31   | 8.23  | 8.20     | 7.26     | 8.46                             | 9.77     | 9.51    | 13.72    | 8.95    | 8.18     |
| Valor P               |                  | 0,0100                            | 0,1067 | 0,0302 | 0,0023  | <0,0001                                     | <0,0001  | <0,0001  | 0,0009                           | 0,0006   | <0,0001 | 0,0002   | <0,0001 | <0,0001  |
| Lineal                |                  | 0,0032                            | 0,0773 | 0,0067 | 0,0012  | <0,0001                                     | <0,0001  | <0,0001  | <0,0001                          | <0,0001  | <0,0001 | <0,0001  | <0,0001 | <0,0001  |
| Cuadrático            |                  | 0,6242                            | 0,9372 | 0,2140 | 0,8411  | 0,2110                                      | 0,1562   | 0,1518   | 0,2870                           | 0,8931   | 0,0876  | 0,1582   | 0,1332  | 0,4297   |
| TAD                   |                  | 0,0436                            | 0,0431 | 0,0646 | 0,0274  | 0,4112                                      | 0,5089   | 0,9283   | 0,4331                           | 0,2018   | 0,2389  | 0,5324   | 0,8083  | 0,4238   |
| Dietas                |                  | 0,0111                            | 0,2059 | 0,0125 | 0,0047  | <0,0001                                     | <0,0001  | <0,0001  | <0,0001                          | <0,0001  | <0,0001 | <0,0001  | <0,0001 | <0,0001  |
| TAD x Dietas          |                  | 0,1665                            | 0,3915 | 0,4609 | 0,0693  | 0,9781                                      | 0,9816   | 0,7995   | 0,6932                           | 0,8904   | 0,8667  | 0,7648   | 0,9984  | 0,3888   |

a,b,c Medias dentro de una columna seguida por la misma letra no son diferentes en P=0.05. D1: Dieta control, D2: Dieta con 15% de harina de cáscara de cacao D3: Dieta con 30% de harina de cáscara de cacao. SEM: error estándar de la media. A, B y C son parámetros de la ecuación  $mL\ gas = GV (1 + (B/t)C) - 1$  (Groot *et al.*, 1996), TAD: toros alimentados con las distintas dietas.

**Tabla 9.** Parámetros de degradación ruminal de materia orgánica de Dietas que contiene 0, 15 y 30% de harina de cáscara de cacao (*Theobroma cacao*)

| Toros alimentados con | Dietas incubadas | Parámetros de degradación ruminal |        |        |          | Degradación ruminal efectiva ( $k$ -values $h^{-1}$ ) |               |               | Horas de degradación en el rumen |          |         |          |          |           |
|-----------------------|------------------|-----------------------------------|--------|--------|----------|---|---------------|---------------|----------------------------------|----------|---------|----------|----------|-----------|
|                       |                  | A                                 | B      | C      | A+B      | 0.08 $h^{-1}$   | 0.05 $h^{-1}$ | 0.02 $h^{-1}$ | 3                                | 6        | 12      | 24       | 48       | 72        |
| TAD1                  | D1               | 341,1a                            | 290,7a | 0,05a  | 631,9ab  | 448,4ab   | 480,0a        | 540,5a        | 378,4ab                          | 409,2a   | 485,3a  | 524,1ab  | 586,7a   | 616,9a    |
|                       | D2               | 321,5ab                           | 259,5a | 0,05a  | 581,1abc | 417,4abcd   | 446,3abc      | 501,6bc       | 349,2bc                          | 396,1ab  | 434,9bc | 491,1abc | 543,8abc | 574,1bcde |
|                       | D3               | 299,2b                            | 249,2a | 0,05a  | 548,4c   | 393,8d  | 421,8c        | 474,5c        | 336,0c                           | 360,9bc  | 409,5c  | 474,6abc | 511,7c   | 543,3e    |
| TAD2                  | D1               | 345,1a                            | 278,1a | 0,05a  | 623,2abc | 450,8*  | 481,5a        | 539,6a        | 392,5a                           | 401,0ab  | 482,5a  | 532,9a   | 583,4a   | 612,6ab   |
|                       | D2               | 312,8ab                           | 270,5a | 0,05a  | 583,4abc | 409,8cd   | 439,8bc       | 497,8bc       | 348,6bc                          | 372,6abc | 434,9bc | 483,5abc | 547,2abc | 568,7cde  |
|                       | D3               | 293,3b                            | 269,7a | 0,05a  | 563,1bc  | 388,5d  | 418,0c        | 475,8c        | 332,6c                           | 345,6c   | 412,5c  | 464,8bc  | 520,4c   | 548,7e    |
| TAD3                  | D1               | 320,3ab                           | 286,8a | 0,06a  | 607,2abc | 437,3abc  | 470,2ab       | 529,6ab       | 359,9abc                         | 403,0ab  | 470,3ab | 522,9ab  | 576,5ab  | 606,6abc  |
|                       | D2               | 332,5ab                           | 321,9a | 0,03a  | 654,5a   | 411,6bcd  | 440,7bc       | 506,8abc      | 353,7bc                          | 381,7abc | 428,6bc | 479,7abc | 540,1bc  | 592,0abcd |
|                       | D3               | 319,3ab                           | 297,4a | 0,03a  | 616,7abc | 388,3d  | 415,4c        | 478,9c        | 334,8c                           | 365,0abc | 400,7c  | 444,1c   | 517,3c   | 558,7de   |
| SEM                   |                  | 8.51                              | 17.04  | 0.01   | 17.98    | 8.36  | 8.36          | 7.45          | 8.12                             | 9.97     | 10.20   | 13.83    | 9.40     | 8.68      |
| Valor P               |                  | 0,0008                            | 0,1428 | 0,0587 | 0,0023   | <0,0001   | <0,0001       | <0,0001       | <0,0001                          | 0,0002   | <0,0001 | 0,0003   | <0,0001  | <0,0001   |
| Lineal                |                  | <0,0001                           | 0,3514 | 0,0325 | 0,0039   | <0,0001   | <0,0001       | <0,0001       | <0,0001                          | <0,0001  | <0,0001 | <0,0001  | <0,0001  | <0,0001   |
| Cuadrático            |                  | 0,6727                            | 0,6591 | 0,3526 | 0,5370   | 0,4112  | 0,3487        | 0,4028        | 0,3742                           | 0,7013   | 0,1451  | 0,3556   | 0,4014   | 0,6419    |
| TAD                   |                  | 0,6105                            | 0,0318 | 0,0739 | 0,0181   | 0,5563  | 0,5652        | 0,9817        | 0,4476                           | 0,1598   | 0,3862  | 0,4125   | 0,7590   | 0,3955    |
| Dietas                |                  | 0,0002                            | 0,5853 | 0,0668 | 0,0126   | <0,0001   | <0,0001       | <0,0001       | <0,0001                          | <0,0001  | <0,0001 | <0,0001  | <0,0001  | <0,0001   |
| TAD x Dietas          |                  | 0,0313                            | 0,3557 | 0,2741 | 0,0403   | 0,9074  | 0,9638        | 0,7015        | 0,1670                           | 0,8304   | 0,9925  | 0,8453   | 0,9389   | 0,3714    |

<sup>a,b,c</sup> Medias dentro de una columna seguida por la misma letra no son diferentes en  $P=0.05$ . D1: Dieta control, D2: Dieta con 15% de harina de cáscara de cacao D3: Dieta con 30% de harina de cáscara de cacao. SEM: error estándar de la media. A, B y C<sub>SEP</sub> son parámetros de la ecuación  $mL\ gas = GV (1 + (B/i)^C)^{-1}$  (Groot *et al.*, 1996), TAD: toros alimentados con las distintas dietas.

## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS

#### 6.1 CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de esta investigación podemos concluir que la adición de harina de residuos postcosecha de cacao hasta el 15% en las dietas para rumiantes, aumenta el consumo voluntario, estabiliza el pH, propicia mayor cantidad de ácido propiónico, mejora la degradación de las dietas y reduce la producción de gases de efecto invernadero.

#### 6.2 BIBLIOGRAFÍA

- Abarca, D., Martínez, R., Muñoz, J., Torres, M., Vargas, G. (2010). Residuos de Café, Cacao y Cladodio de Tuna: Fuentes Promisorias de Fibra Dietaria. *Revista Tecnológica ESPOL*, 23 (2), 63-69. Recuperado de <http://learningobjects2006.espol.edu.ec/index.php/tecnologica/article/view/57>
- Almeida, A., & Valle, R. (2007). Ecophysiology of the cacao tree. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19 (4), 425-448. Recuperado de <https://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202007000400011>
- Arias, R., Unruh-Snyder, L., Scholljegerdes, E., Baird, A., Johnson, K., Buckmaster, D., Lemenager, R., & Lake, S. (2013). Effects of feeding corn modified wet distillers grain plus solubles co-ensiled with chopped whole plant corn on heifer growth performance and diet digestibility in beef cattle. *Journal of Animal Science Abstract - Animal Production*, 91 (9), 4366-4373. Recuperado de <https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/91/9/4366>
- Aschenbach, J., Penner, G., Stumpff, F., & Gäbel, G. (2010). Ruminant nutrition symposium: Role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. *Journal of Animal*

- Science Abstract - Animal Nutrition, 89 (4), 1092-1107. Recuperado de <https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/89/4/1092>
- Astudillo, E. (2017). Magap aclara que la producción nacional de carne bovina abastece la demanda. El Telégrafo. Recuperado de <http://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/economia/8/magap-aclara-que-la-produccion-nacional-de-carne-bovina-abastece-la-demanda>
- Bargo, F., Muller, L., Delahoy, J., & Cassidy, T. (2002). Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *Journal Dairy Science*, 85, 2948–2963. Recuperado de [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74381-6](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74381-6).
- Bargo, F., Muller, L., Kolver, E., & Delahoy, J. (2003). Invited Review: Production and Digestion of Supplemented Dairy Cows on Pasture. *Journal of Dairy Science*, 86 (1), 1-42. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030203735814>
- Barros, M., Solorio, F., Sandoval, C., Klieve, A., Rojas, R.,-Herrera, Briceño, E., & Ku, J. (2015). Rumen function in vivo and in vitro in sheep fed *Leucaena leucocephala*. *Tropical Animal Health and Production*, 47 (4), 757–764. Recuperado de <https://link.springer.com/article/10.1007/s11250-015-0790-y#citeas>
- Bauchop, T. (1981). The anaerobic fungi in rumen fibre digestion. *Agriculture and Environment*, 6 (2), 339-348. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0304113181900217>
- Bergen, W. (1977). Factors affecting growth yields of microorganisms in the rumen. *Tropical Animal Production*, 4 (1), 13-20 Recuperado de [http://www.fao.org/waicent/Faoinfo/agricult/AGA/AGAP/FRG/TAP41/4\\_1\\_2.PDF](http://www.fao.org/waicent/Faoinfo/agricult/AGA/AGAP/FRG/TAP41/4_1_2.PDF)
- Brenes, O. (1990). Posibilidades de la utilización de los subproductos del beneficio del cacao. IICA. Recuperado de [http://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=UHPptC\\_7HNEC&oi=fnd&pg=PA141&dq=cascara+de+cacao+y+cascarilla+de+cacao&ots=C83kTpOoeG&sig=2YjDQTXrWVgPrXo\\_9uICZsbRKmE&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=true](http://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=UHPptC_7HNEC&oi=fnd&pg=PA141&dq=cascara+de+cacao+y+cascarilla+de+cacao&ots=C83kTpOoeG&sig=2YjDQTXrWVgPrXo_9uICZsbRKmE&redir_esc=y#v=onepage&q&f=true)



- Blümmel, M., & Ørskov, E. (1993). Comparison of in vitro gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 40 (2), 109-119. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/037784019390150I>
- Calsamiglia, S. (1997). Nuevas bases para la utilización de la fibra en dietas de rumiantes. Departamento de Patología y Producción Animal, Universidad Autónoma de Barcelona. Recuperado de [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_agronomia/Uso\\_de\\_Fibra\\_en\\_Rumiantes.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Uso_de_Fibra_en_Rumiantes.pdf)
- Carmona, J., Bolívar, D. & Giraldo, L. (2005). El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 18 (1), 49-62. Recuperado de <http://www.redalyc.org/html/2950/295022952006/>
- Carmona, J. (2007). Efecto de la utilización de arbóreas y arbustivas forrajeras sobre la dinámica digestiva en bovinos. *Revista Lasallista de Investigación*, 4 (1), 40-50. Recuperado de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-44492007000100007&lng=en&tlng=.](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-44492007000100007&lng=en&tlng=)
- Cerrato M., Calsamiglia S., Ferret A. (2005). Effects of time at suboptimal pH on rumen bacterial fermentation in a dual flow continuous culture system. *XI Jornadas sobre Producción Animal*, 1-2, 623-625. Recuperado de <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20053212127>
- Chedly, K., & Lee, S. (2001). Ensilaje de subproductos agrícolas como opción para los pequeños campesinos. *Estudio FAO Producción y Protección Vegetal*. Food and Agriculture Organization of the United Nations-FAO, 161, 87-97. Recuperado de <http://www.fao.org/home/en/>
- Cieślak, A., Militko, R., Bełżecki, G., Szumacher-Strabel, M., Potkański, A., Kwiatkowska, E., & Michałowski, T. (2006). Effect of vegetable oils on the methane concentration and population density of the rumen ciliate, *Eremoplastron dilobum*, grown *in vitro*. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 15 (1), 15-18. Recuperado de

<http://www.jafs.com.pl/Effect-of-vegetable-oils-on-the-methane-concentration-and-population-density-of-the-rumen-ciliate-n-Eremoplastron-dilobum-grown-in-vitro-,70132,0,2.html>

Coordinación Nacional del Sistema de Información Nacional-SINAGAP. (2014). Boletín Situacional de cacao. Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca-MAGAP. Recuperado de <http://sinagap.agricultura.gob.ec/phocadownloadpap/cultivo/2014/dboletin-situacional-de-cacao-2014-actualizado.pdf>

Dehority, B., & Orpin, C. (1997). Development of and natural fluctuations in, rumen microbial populations. *The Rumen Microbial Ecosystem*, 5, 196-197. Recuperado de [https://page-one.live.cf.public.springer.com/pdf/preview/10.1007/978-94-009-1453-7\\_5](https://page-one.live.cf.public.springer.com/pdf/preview/10.1007/978-94-009-1453-7_5)

Dohme, F., Machmüller, A., Wasserfallen, A., & Kreuzer, M. (2000). Comparative efficiency of various fats rich in medium-chain fatty acids to suppress ruminal methanogenesis as measured with RUSITEC. *Canadian Journal of Animal Science*, 80 (3), 473-484. Recuperado de <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.4141/A99-113#.Wc23MmjWzIU>

Dong, L., Yan, T., Ferris, C., Carson, A., & McDowell, D. (2015). Comparison of maintenance energy requirement and energetic efficiency between lactating Holstein-Friesian and other groups of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98 (2), 1136-1144. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030214008200>

Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua-ESPAC. (2016). Ganadería: Sector Pecuario. Instituto Nacional Ecuatoriano de Estadísticas y Censos-INEC. Encuesta. Recuperado de: [http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac-2016/Presentacion%20ESPAC%202016.pdf](http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2016/Presentacion%20ESPAC%202016.pdf)

Fernández, A. (1998). Fisiología de la Producción de carne. EEA INTA, 3. Recuperado de <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=book2.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=001341>

- Galindo, J., González, N., Marrero, Y., Sosa, A., Ruiz, T., Febles, G., Torres, V., Aldana, A., Achang, G., Moreira, O., Sarduy, L. & Noda, A. (2014). Efecto del follaje de plantas tropicales en el control de la producción de metano y la población de protozoos ruminales *in vitro*. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 48 (4), 359-364. Recuperado de <http://www.ciencia-animal.org/revista-cubana-de-ciencia-agricola/articulos/T48-N4-A2014-P359-J-Galindo.pdf>
- Groot, J., Cone, J., Williams, B., Debersaques, F., & Lantinga, E. (1996). Multiphasic analysis of gas production kinetics for *in vitro* fermentation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 64 (1), 77-89. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840196010127>
- Hungate, R. (1990). *The rumen and its microbes*. New York: Academic Press, 24, 533. Recuperado de <http://garfield.library.upenn.edu/classics1990/A1990DF82200001.pdf>
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología-INAMHI. (2015). Geoinformación de Tungurahua, sector Querochaca. Recuperado de <http://www.serviciometeorologico.gob.ec/geoinformacion-hidrometeorologica/>
- Jalč, D., Kišidayová, S., & Nerud, F. (2002). Effect of plant oils and organic acids on rumen fermentation *in vitro*. *Folia Microbiologica*, 47 (2), 171–177. Recuperado de <https://link.springer.com/article/10.1007%2F978-3-70-005176-7?LI=true>
- Jouany, J. (1994). Manipulation of microbial activity in the rumen. *Archiv für Tierernährung*, 46 (2), 133-153. Recuperado de <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/17450399409381766>
- Joblin, K. (1981). Isolation, enumeration and maintenance of rumen anaerobic fungi in roll tubes. *Applied and Environmental Microbiology*, 42 (6), 1119-1122. Recuperado de <http://aem.asm.org/content/42/6/1119.short>
- Johnson, K., & Johnson, D. (1995). Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science Abstract*, 73 (8), 2483-2492. Recuperado de <https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/73/8/2483>

- Johnson, K. & Johnson, D. (2000). Methods of manipulating the microbial metabolism in the rumen. *Journal of Animal Science*, 49 (3), 231-253. Recuperado de <http://animres.edpsciences.org/articles/animres/ref/2000/03/z0305/z0305.html>
- Krause, D., Denman, S., Mackie, R., Morrison, M., Rae, A., Attwood, G., & McSweeney, C. (2003). Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics. *FEMS Microbiology Reviews*, 27 (5), 663–693. Recuperado de <https://academic.oup.com/femsre/article/27/5/663/512631/Opportunities-to-improve-fiber-degradation-in-the>
- Leung, A. (1980). *Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics*. John Wiley & Sons. Recuperado de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US8051877>
- Liu, J., Zhang, M., Xue, C., Zhu, W., & Mao, S. (2016). Characterization and comparison of the temporal dynamics of ruminal bacterial microbiota colonizing rice straw and alfalfa hay within ruminants. *American Dairy Science Association*, 99, 1-14. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030216306592>
- Magistrelli, D., Zanchi, R., Malagutti, L., Galassi, G., Canzi, E., & Rosi, F. (2016). Effects of cocoa husks feeding on the composition of swine intestinal microbiota. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (10), 2046-2052. Recuperado de <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.jafc.5b05732>
- Martin, C., Morgavi, D., & Doreau, M. (2010). Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal*, 4 (3), 351-365. Recuperado de <https://www.cambridge.org/core/journals/animal/article/methane-mitigation-in-ruminants-from-microbe-to-the-farm-scale/EA3281B79CF2653DF2D1CD946D698D1A>
- McAllister, T., Bae, H., Jones, G. & Cheng, K. (1994). Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *Journal Animal Science*, 72, 3004-3018. Recuperado de <http://ajas.info/journal/view.php?doi=10.5713/ajas.2013.13217>

- McAllister, T., Phillippe, R., Rode, L. & Cheng, K. (1993). Effect of the protein matrix on the digestion of cereal grains by ruminal microorganisms. *Journal Animal Science*, 71 (1), 205-212. Recuperado de <http://ajas.info/journal/view.php?doi=10.5713/ajas.2011.14737>
- Mejía, L., & Argüello O. (2000). Tecnología para el mejoramiento del sistema de producción de cacao. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria-CORPOICA. Recuperado de [https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/33458806/220.1.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1506114557&Signature=%2B8%2FYw9cFRZ6Jy4I7t3id5JtZ6VI%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DDetalle\\_Costos\\_Direclos\\_A\\_E\\_Cacao.pdf](https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/33458806/220.1.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1506114557&Signature=%2B8%2FYw9cFRZ6Jy4I7t3id5JtZ6VI%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DDetalle_Costos_Direclos_A_E_Cacao.pdf)
- Mestanza, J., & Velasco, B. (2015). La Costa Produce el 70% de la carne de res. *El Comercio*. Recuperado de <http://www.elcomercio.com/actualidad/costa-produccion-carnederes-ganado-consumo.html>
- Montamayor, J., Risterucci, A., López, P., Ortiz, C., Moreno, A., Lanaud., C. (2002). Cacao domestication I: The origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity*, 89, 380-386. Recuperado de <https://search.proquest.com/openview/3b7e223df717634c05b1de8abd9f080e/1?pq-origsite=gscholar&cbl=36536>
- Montenegro, J & Abarca, S. (2002). Los sistemas silvopastoriles y el calentamiento global: un balance de emisiones. Lund University Libraries. Recuperado de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012035770>
- Mould, F., Ørskov, E., & Mann, S. (1983). Associative effects of mixed feeds. I. effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion of various roughages. *Animal Feed Science and Technology*, 10, (1), 15-30. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0377840183900032>
- Murillo, I. & Quilambaqui, M. (2008). Evaluación de 2 Dietas Experimentales con Diferentes Niveles de Cascarilla de Cacao (*Theobroma cacao* L.) en las Fases de Crecimiento y

- Acabado de Cuyes (*Cavia porcellus* L.) de Raza Andina. Revista Tecnológica ESPOL. Recuperado de [http://www.cib.espol.edu.ec/Digipath/REVISTA\\_CICYT/Articulo/74.pdf](http://www.cib.espol.edu.ec/Digipath/REVISTA_CICYT/Articulo/74.pdf)
- Official Methods of Analysis-AOAC. (1990). Dry material/Ashes. Association of Official Analytical Chemists, 1(15). Recuperado de <https://archive.org/details/gov.law.aoac.methods.1.1990>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura-FAO. (2010). Calidad de los alimentos vinculados con el origen y las tradiciones en america latina. FAO. Recuperado de <http://www.fao.org/fileadmin/templates/olq/documents/Ecuador/ppp/taller%20nacional%20ecuador/2DiagnosticoCadenaCacaoSergioPino.pdf>
- Ørskov, E., Hovell, F., & Mould, F. (1980). Uso de la técnica de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos (digestión, rumen). *Producción Animal Tropical*, 5 (3), 213-233. Recuperado de <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=AGRINTER.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expression=mfn=065034>
- Ørskov, E., & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92 (2), 499-503. Recuperado de <https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-agricultural-science/article/estimation-of-protein-degradability-in-the-rumen-from-incubation-measurements-weighted-according-to-rate-of-passage/E2DB4F2290E374E10E9800E512D127A7>
- Patra, A., & Yu, Z. (2013). Effects of coconut and fish oils on ruminal methanogenesis, fermentation, and abundance and diversity of microbial populations in vitro. *Journal of Dairy Science*, 96 (3), 1782-1792. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030213000544>
- Pirondini, M., Colombini, S., Malagutti, L., Rapetti, L., Galassi, G., Zanchi, R., Crovetto, G. (2015). Effects of a selection of additives on in vitro ruminal methanogenesis and in

- situ and in vivo NDF digestibility. *Animal Science Journal*. 86 (1), 59-68. Recuperado de <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/asj.12249/full>
- Poppi, D., & McLennan, S. (1995). Protein and Energy Utilization by Ruminants at Pasture. *Journal Animal Science*, 73 (1), 278-290. Recuperado de <https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/73/1/278>
- Rodríguez, H. (1968). In vivo digestibility: the relative position within the rumen. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. Recuperado de [http://www.fao.org/livestock/agap/frg/tap53/53\\_1.pdf](http://www.fao.org/livestock/agap/frg/tap53/53_1.pdf)
- Ryan, J. (1980). Determination of volatile fatty acids and some related compounds in ovine rumen fluid, urine, and blood plasma, by gas-liquid chromatography. *Analytical Biochemistry*, 108 (2), 374-384. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269780906028>
- Silva, C., Cevallos R., Sarabia, M., & Boza, J. (2016). Impacto en el medio ambiente de las actividades agropecuarias en el Cantón El Empalme, Ecuador. *Revista Caribeña de Ciencias Sociales*. Recuperado de <http://www.eumed.net/rev/caribe/2016/08/ganaderia.html>
- Stern, M., Calsamiglia, S. & Endres, M. (1994). Dinámica del metabolismo de los hidratos de carbono y del nitrógeno en rumen. X Curso de Especialización FEDNA. University of Minnesota EE UU. Recuperado de [https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/42674534/STERN\\_Metabolismo\\_en\\_Rumen.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1506213804&Signature=x41qP7zV1oaNIqPGUyKFXUYIFNU%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DMADRID\\_10\\_y\\_11\\_de\\_Noviembre\\_de\\_1994\\_X\\_CU.pdf](https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/42674534/STERN_Metabolismo_en_Rumen.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1506213804&Signature=x41qP7zV1oaNIqPGUyKFXUYIFNU%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DMADRID_10_y_11_de_Noviembre_de_1994_X_CU.pdf)
- Tamminga, S. (1979). Protein degradation in the forestomachs of ruminants. *Journal of Animal Science*, 49 (6), 1615-1630. Recuperado de <https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/49/6/JAN0490061615>
- The International Cocoa Organization-ICCO. (2017) Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, 43,2. Recuperado de <https://www.icco.org/home/latest-news.html>

- Theodorou, M., Williams, B., Dhanoa, M., Mcallan, A., & France J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminants feeds. *Animal Feed Science and technology*, 48, 185-197. Recuperado de <http://r4d.dfid.gov.uk/pdf/outputs/r4338b.pdf>
- Ushida, K., Kayouli C, De Smet S. & Jouany, J. (1990). Effect of defaunation on protein and fibre digestion in sheep fed ammonia-treated straw-based diets with or without maize. *British Journal of Nutrition*, 64 (3), 765-775. Recuperado de <https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/article/effect-of-defaunation-on-protein-and-fibre-digestion-in-sheep-fed-on-ammonia-treated-straw-based-diets-with-or-without-maize/7D77BCE9BAE888EE29705CC92C8D9F7F>
- Valladares, F. (2017). Modelamiento del proceso de digestión anaeróbica de estiércol vacuno y cascara de cacao. Universidad de Piura. Recuperado de [https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/3069/IME\\_225.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/3069/IME_225.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Van Soest, P. (1982). Nutritional ecology of the ruminant animal. Cornell University, 2, 488. Recuperado de <http://www.cornellpress.cornell.edu/book/?GCOI=80140100037050>
- Villamizar Jaimes, Y., Rodríguez Guerrero, J., León Castrillo, L. (2016). Caracterización fisicoquímica, microbiológica y funcional de harina de cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN-51. Universidad Francisco de Paula, 9, 65-75. Recuperado de <http://ojs.tdea.edu.co/index.php/cuadernoactiva/article/view/421>
- Weimer, P. (1998) Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective. *Journal of Animal Science*, 76, 3114-3122. Recuperado de <http://naldc.nal.usda.gov/download/13671/PDF>
- Williams, A., & Coleman, G. (1997). The rumen protozoa. *The Rumen Microbial Ecosystem*, 73, 139. Recuperado de [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-1453-7\\_3](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-1453-7_3)
- Wood, G., & Lass, R. (1985). Cocoa. Longman, 4. Recuperado de <https://www.abebooks.co.uk/book-search/title/cocoa/author/g-a-r-wood-and-r-a-lass/>



Yokohama, M. & Johnson, K. (1988). Microbiología del rumen e intestino. En: El rumiante, fisiología digestión y nutrición. Church DC. Recuperado de <http://repository.unad.edu.co/handle/10596/1479>

## **CAPÍTULO VII**

### **PROPUESTA**

#### **7.1 DATOS INFORMATIVOS**

Tema: “Inclusión de Dietas con 15 % de *Theobroma cacao* para mejorar las funciones ruminales en bovinos de carne

#### **7.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA**

El Ecuador es conocido como uno de los países mayores productores de cacao fino de aroma, impulsando por décadas la economía y la industrialización en torno a este producto, en base a su valor nutritivo; siendo un producto elaborado genera gran cantidad de residuos (Murillo & Quilambaqui, 2008). Usar estos residuos como una alternativa alimenticia en la dieta de animales de producción, no solo ayuda al medio ambiente, disminuyendo la contaminación que generan estos desperdicios, sino además puede disminuir el costo de producción, e inclusive puede mejorar la productividad animal. Tomando en cuenta que en nuestro país el ganado bovino lidera el sector pecuario con 4,13 millones de cabezas de ganado a nivel nacional en el año 2016, y el 49,48% de estas se producen en la región sierra (ESPAC 2016), se genera la necesidad de implementar dietas alternativas.

La reutilización de los residuos postcosecha de cacao puede mejorar la productividad del ganado bovino al influenciar de manera positiva sobre la cinética de degradabilidad de la materia, y minimizar el gasto energético en la producción de gases de efecto invernadero. Además, se puede seguir analizando sus efectos sobre el ganado por ser un recurso de nuestro medio que no es muy estudiado, ni aprovechado.

### **7.3 JUSTIFICACIÓN**

La adición de harina de cascara de cacao en la alimentación del ganado bovino, puede reducir los costos de producción al ser residuos no reutilizados, además que mediante análisis realizados se ha observado que posee nutrientes que pueden ser asimilados por el ganado bovino, y contiene 46.4% de carbohidratos, los cuales representan entre el 50 y el 80% de la dieta consumida por un rumiante, constituyendo el principal aporte energético (Villamizar *et al.*, 2016)

Este proyecto sugiere implementar a una dieta balanceada el 15% de harina de residuos postcosecha de cacao lo que disminuye el costo de producción y puede mejorar las funciones ruminales, además reducir la producción de gases de efecto invernadero; sustentándonos en los análisis realizados pudimos observar que la adición de esta materia prima no tradicional, tuvo aceptación por los rumiantes, probablemente por su aroma y palatabilidad, además promueve una degradación efectiva, lo que se transformaría en un mayor aporte nutricional, por otra parte disminuye la producción de gases de efecto invernadero lo cual implica menor gasto energético, y esta energía puede ser aprovechada por el animal . Por tanto se justifica el uso de los residuos postcosecha de cacao para mejorar las funciones ruminales.

### **7.4 OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar los efectos productivos de la ingestión de dietas a base de de15% de harina de residuos postcosecha de *Theobroma cacao* en bovinos.

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar el efecto de la ingestión de dietas a base de15% de harina de residuos postcosecha de *Theobroma cacao* sobre la ganancia de peso diaria.

Determinar la relación costo beneficio de la implementación de dietas a base de15% de harina de residuos postcosecha de *Theobroma cacao*.

## **7.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD**

Este proyecto es totalmente factible en los aspectos económico, social y ambiental, al pretender aprovechar residuos vegetales de plantaciones extensas de cacao a lo largo del país, considerando que estos desechos no son reutilizados en nuestro medio y por el contrario generan problemas en las plantaciones como la producción de hongos en el suelo que daña el cultivo, además los análisis e investigaciones realizadas comprueba que pueden generar efectos positivos sobre la productividad animal.

## **7.6 FUNDAMENTACIÓN**

La necesidad de mejorar la productividad animal y disminuir los gastos de producción, es cada vez más aparente ya que en nuestro medio la alimentación del ganado, principalmente como animal de producción, se basa en forrajes pobres de nutriente por desarrollarse en suelos poco productivos y en climas inestables, y por otra parte el desarrollo de alimentos balanceados que aporten con los requerimientos nutricionales necesarios, es costoso y además las materias primas para sus formulaciones compiten con la alimentación humana. Estos factores son los que nos llevan a buscar nuevas alternativas para mejorar la productividad de la ganadería con alimentos no tradicionales y propios de nuestro medio, que mejor aún si se trata de residuos o desechos vegetales que pueden ser reutilizados, como son los residuos postcosecha de cacao, considerando que es uno de los cultivos más desarrollados en el Ecuador.

## **7.7 METODOLOGÍA, MODELO OPERATIVO**

- Nivel de inclusión de *Theobroma cacao* en dietas balanceadas para bovinos.
- Evaluación de la ganancia de peso diaria
- Determinación de los costos de producción.

## **7.8 ADMINISTRACIÓN**

La administración de esta investigación estará a cargo de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.

## **7.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN**

Se recomienda realizar la evaluación del proyecto para que los resultados sean confiables, y los mismos publicados en beneficio de los productores de nuestro país.