EFECTO DEL TIPO DE FUENTE NITROGENADA (UREA *VS* CASEÍNA) SOBRE LA DIGESTIÓN RUMINAL *IN VITRO* DE LA PARED CELULAR DE FORRAJES

M.D. Carro, C. Valdés, S. López, y J.S. González

Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 LEÓN.

Introducción

Algunos estudios (Bryant, 1973) señalan que las bacterias celulolíticas son incapaces de utilizar nitrógeno aminoacídico, mientras que sí pueden hacerlo las bacterias amilolíticas, cuyo crecimiento se incrementó al hacerlo la proporción de péptidos en el líquido ruminal. Sin embargo, en otros estudios (Yhoka y Buttery, 1987) se observó una captación de aminoácidos y péptidos por ambos grupos de bacterias. En este trabajo se planteó el estudio del efecto del tipo de fuente nitrogenada (urea *vs* caseína) sobre la fermentación ruminal *in vitro* de pared celular de varios forrajes.

Material y métodos

Para obtener paredes celulares de composición química diferente se seleccionaron los siguientes forrajes: heno de gramíneas (heno 1), heno de prado permanente (heno 2), heno de alfalfa, heno de trébol y rebrotes de *Calluna vulgaris* (Calluna) y de *Erica arborea* (Erica). Las muestras de los forrajes se trataron para obtener fibra neutro-detergente (Goering y Van Soest, 1970) y se determinó su contenido en hemicelulosa, celulosa y lignina (Tabla 1).

Tabla 1. Composición química (g/kg MS) de las paredes celulares (FND) incubadas

	Heno 1	Heno 2	Alfalfa	Trébol	Erica	Calluna
Hemicelulosa	494	441	268	260	198	276
Celulosa	450	471	546	533	558	465
Lignina	56	88	186	207	244	259

La muestras fueron molidas utilizando una malla de 1 mm de paso y se incubaron (200 mg de MS) *in vitro* siguiendo la técnica descrita por Menke y Steingass (1988). Como inóculo se utilizó líquido ruminal procedente de tres ovejas fistuladas en el rumen alimentadas con un heno de buena calidad. Para favorecer el crecimento de las bacterias celulolíticas se añadió al inóculo una disolución de los ácidos isobutírico, valérico e isovalérico en concentraciones adecuadas para no limitar el crecimiento microbiano. Como fuente nitrogenada se añadieron 6 mg de N en forma de urea o en forma de caseína.

Para cada muestra se incubaron diez frascos (cinco por tratamiento). En tres de los cinco frascos se registró la producción de gas a las 3, 6, 9, 12, 24, 35, 48, 72, 96 y 120 horas. Los datos de producción de gas se ajustaron al siguiente modelo

Trabajo financiado por la C.I.C.Y.T. (Proyecto AGF94-0026)

exponencial: $y = a + b\,(1 - e^{(-ct)})$, en el que c representa el ritmo de producción de gas y $a+b$ la producción potencial de gas. Transcurridas 120 horas de incubación los botes se introdujeron en un baño de hielo para detener la fermentación y su contenido se vació en crisoles provistos de una placa porosa para filtrar su contenido. De cada tubo se recogió una muestra del líquido filtrado para determinar posteriormente su contenido en amoníaco. El residuo de la pared celular se lavó con agua destilada, se secó en estufa a 100ºC durante 24 horas y se pesó para calcular la desaparición de pared celular. En los dos frascos restantes se tomaron muestras (1 ml) de líquido a las 24 y 48 horas de incubación para determinar la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV). El efecto del tipo de fuente nitrogenada se estudió mediante análisis de varianza utilizando el procedimiento ANOVA del Statistical Analysis Systems Institute (SAS, 1985).

Resultados y discusión

Tal como figura en la Tabla 2, no existieron diferencias estadísticamente significativas (P>0,05) entre tratamientos en la desaparición de pared celular tras su incubación durante 120 horas, excepto en el caso de Calluna, que presentó una mayor desaparición cuando fue incubada con urea. En cuanto a la concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH_3) tras 120 horas de incubación (Tabla 2), ésta fue superior en las paredes celulares incubadas con urea, excepto en las paredes celulares procedentes del heno de alfalfa y del heno de trébol, en las que no existieron diferencias debidas al tipo de fuente nitrogenada.

Tabla 2. Desaparición (%) de pared celular y concentración de nitrógeno amoniacal (mg NH_3-N/100 ml) tras 120 h de incubación *in vitro* (a,b:P<0,05)

	Heno 1	Heno 2	Alfalfa	Trébol	Erica	Calluna
Desaparición:						
Urea	86,9	73,2	49,5	54,8	35,8	39,9 ^{b}
Caseína	86,7	71,7	50,1	53,9	35,8	34,1 ^{a}
s.e.d.	2,17	1,63	1,27	3,73	0,43	1,75
NH_3-N						
Urea	64,8 ^{b}	68,4 ^{b}	72,7	67,9	63,8 ^{a}	69,0 ^{b}
Caseína	58,3 ^{a}	62,2 ^{a}	69,1	67,5	70,7 ^{b}	59,7 ^{a}
s.e.d.	0,34	1,79	1,46	0,87	1,12	1,56

En la tabla 3 figura el ritmo de producción de gas (c) y la producción potencial del mismo ($a+b$) estimados para las paredes celulares incubadas. La utilización de caseína como fuente nitrogenada produjo un mayor (P<0,05) ritmo de producción de gas en todas las paredes celulares, excepto en las del heno 1 y la de Erica, en las que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre la urea y la caseína. En estas dos últimas muestras no existieron diferencias entre tratamientos en la producción de AGV (Tabla 3) a las 24 horas (calculada como la diferencia entre los μmoles producidos en la muestra y los mmoles producidos en el blanco correspondiente a cada tratamiento), hecho que concuerda con la ausencia de diferencias en el ritmo de producción de gas. En el resto de las paredes celulares

incubadas (excepto en la del heno 2) la producción de AGV fue superior ($P<0,05$) cuando fue incubada con caseína que cuando se incubó con urea.

Tabla 3. Ritmo de producción de gas (*c*), producción potencial (*a+b*; ml) de gas y producción de ácidos grasos volátiles (AGV; mmoles) tras 24 h y 48 h de incubación *in vitro* (a,b: $P<0,05$; s.e.d.: error estándar de la diferencia)

	Heno 1	Heno 2	Alfalfa	Trébol	Erica	Calluna
a+b (ml)						
Urea	82,6	59,0	44,5	42,1	14,4	27,1
Caseína	80,7	60,0	46,5	44,3	14,5	26,9
s.e.d.	2,48	2,20	1,26	1,58	1,18	1,04
Ritmo (*c*)						
Urea	0,0224	0,0176 ^{a}	0,0281 ^{a}	0,0236 ^{a}	0,0230	0,0128 ^{a}
Caseína	0,0228	0,0196 ^{b}	0,0305 ^{b}	0,0275 ^{b}	0,0242	0,0183 ^{b}
s.e.d.	0,00050	0,00046	0,00072	0,00102	0,00200	0,00071
AGV (24h)						
Urea	768	495	579 ^{a}	468 ^{a}	131	90,6 ^{a}
Caseína	798	536	686 ^{b}	578 ^{b}	110	227 ^{b}
s.e.d.	10,5	24,1	5,7	17,7	6,9	11,1
AGV (48h)						
Urea	1.286	833	808	707	139	290
Caseína	1.303	796	820	731	125	309
s.e.d.	5,7	15,2	29,8	22,5	8,7	13,5

Sin embargo, las diferencias entre tratamientos detectadas en la producción de AGV a las 24 horas desaparecieron a las 48 horas, momento en el que no existieron diferencias en la producción total de AGV (ni tampoco en sus proporciones molares) en ninguna de las paredes celulares incubadas. En línea con estos resultados, la producción potencial de gas no se vió afectada por el tipo de fuente nitrogenada en ninguna de las paredes celulares.

Los resultados expuestos parecen indicar que el ritmo de degradación de la pared celular es superior cuando los microorganismos disponen de una fuente de nitrógeno proteico (caseína) que cuando únicamente disponen de nitrógeno no proteico (urea). Sin embargo, la amplitud de la degradación de la pared celular no se vió afectada por el tipo de fuente nitrogenada. Por otra parte, en algunas de las paredes celulares incubadas no existieron diferencias entre tratamientos, lo que sugiere que el efecto de la fuente nitrogenada podría depender del tipo de sustrato incubado.

Referencias bibliográficas

Bryant, M.P. 1973. *Fed. Proc.*, 32: 1809.

Goering, M.K. y Van Soest, P.J. 1970. *Agr. Handb., nº 379*. Agric. Res. Serv., USDA. Washington, USA.

Menke, K.H. y Steingass, H. 1988. *Anim. Res. Dev.*, 28: 7-55

Statistical Analysis System Institute. 1985. User's Guide: Statistics. SAS Inst. (Editor), Cary, NC.

Yhokha, A. y Buttery, P.J. 1987. *Proc. Nutr. Soc.*, 46: 39A.