EFECTO DE LA CONCENTRACION ENERGETICA DE LA RACION SOBRE LA COLONIZACION MICROBIANA DE LOS RESIDUOS DE INCUBACION DE TRES SUPLEMENTOS PROTEICOS, Y REPERCUSION SOBRE SU DEGRADABILIDAD "IN SACCO"

C. Castrillo, F. Zakraoui, J. Balcells, S.M. Martín-Orúe y J.A. Guada.

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet, 177. 50013. Zaragoza.

Introducción

El método "*in sacco*" es el más comúnmente utilizado para estimar la degradabilidad de la proteína bruta de los alimentos en el rumen, habiendo sido adoptado por la mayor parte de los nuevos sistemas de valoración proteica de rumiantes. Dicho método presenta algunas limitaciones (Michalet-Doreau y Ould Bah, 1992), entre ellas la subestimación sistemática de la degradabilidad debido a la contaminación bacteriana de los residuos de incubación.

En el presente trabajo se estudia el efecto de la relación forraje/concentrado de la dieta sobre el grado de colonización de los residuos de incubación de tres suplementos proteicos de origen vegetal, y su repercusión sobre los valores de degradabilidad "*in sacco* " de la proteína.

Marterial y métodos

Se utilizaron 4 ovejas canuladas en rumen y pesos comprendidos entre 40 y 50 kg . Los animales recibieron de forma consecutiva dos raciones constituidas por un 80/20 (F) y un 20/80 (C) de forraje/concentrado, administradas a un plano de alimentación próximo a 1,3 veces mantenimiento. La dieta se compuso de paja de cebada tratada con amoniaco al 3%, cebada aplastada suplementada con 45 g de caseína/kg y 25 g diarios de un suplemento vitamínico-mineral. La comida fue distribuida dos veces al día a las 9 y 17 horas.

Después de un periodo de adaptación a las dietas de 21 días, se incubaron en cada una de las ovejas, durante 24 horas y por duplicado, tres suplementos proteicos (torta de soja -TS-, gluten feed -GF- y bagazo de cervecería -BC-), caracterizados por su diferente contenido en proteína bruta (49,15, 21,96 y 29,69 %) y pared celular (17,83, 43,61 y 61,75 %). Los suplementos fueron incubados en bolsas de nylon de 10 x 15 cm y 45 μm de diámetro de poro, incluyendo 4 g de materia fresca por bolsa. Una vez extraidas del rumen, las bolsas fueron lavadas y secadas (48h a 65 °C), y los residuos almacenados hasta su análisis.

Dos días después, y con el fin de aislar una fracción microbiana representativa de la adherida a los residuos, se incubaron 10 bolsas en cada oveja durante 24 horas, conteniendo 6 g de una mezcla a partes iguales de los tres

suplementos proteicos. Se mezclaron los residuos de las 40 bolsas y se siguió el siguiente proceso para el aislamiento de la fracción microbiana : a) incubación en suero fisiológico con un 0,1% de metilcelulosa (15 min. a 40°C); b) homogeneización durante 3 min.; c) refrigeración durante 1 hora; d) alternancia de frio (4°C) y calor (50°C) , dos veces durante 10 min. a cada una de las temperaturas; e) filtración (45 μm de poro) y lavado con suero fisiológico; f) centrifugación del residuo (20 min. a 500 x g); g) dos centrifugaciones del sobrenadante (20 min a 20.000 x g); h) liofilización del residuo (pellet bacteriano).

Sobre los residuos de incubación y los pellets bacterianos aislados se determinó el contenido en N mediante el método Kjeldhal y en bases púricas (BP) mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Martín-Orúe et al.,1995).

La colonización microbiana de los residuos de incubación se calculó a partir de la relación BP/N en los residuos y en el pellet microbiano aislado, corrigiendo para la presencia en los residuos de BP del propio suplemento, para lo que se asumió una degradabilidad de la purinas de la TS, GF y BC del 96,5, 97,3 y 81,7 %, respectivamente (Pérez et al., 1996).

Resultados y Discusión

Las bacterias adheridas a los residuos obtenidos con la dieta C presentaron un mayor contenido N y BP que las obtenidas con la dieta F (8,8 y 7,4 g N/100 g MO y 0,974 y 0,612 mmol BP/g N, respectivamente), lo cual podría estar asociado a un mayor ritmo de crecimiento bacteriano, debido a la mayor disponibilidad de energía, o a la mayor fragilidad y susceptibilidad a los cambios de temperatura de las bacterias GRAM (-) (Strange, 1976), dominantes en las raciones forrajeras.

Tabla 1. Colonización bacteriana de los residuos, expresada como materia seca microbiana/materia seca residual (MSmic/MSres), proporción de nitrógeno microbiano en el nitrógeno residual (Nmic/Nres), y degradabilidad "*in sacco* " del nitrógeno de los tres suplementos, sin corregir (dga N) y corregida teniendo en cuenta el componente microbiano (dgr N).

Suplemento	**Torta soja**			**Gluten feed**			**Bagazo Cervecería**		
Ración	**F**	**C**	**DER**	**F**	**C**	**DER**	**F**	**C**	**DER**
MSmic/MSres	26,36	7,88	2,45 **	14,85	5,56	2,58 *	5,86	3,27	1,54 ns
Nmic/Nres	19,43	7,01	2,04 **	62,82	40,14	8,73 *	8,03	6,27	3,00 ns
dga N	89,25	78,72	6,18 *	88,89	88,47	1,52 ns	61,46	55,56	4,66 *
dgr N	91,28	80,30	5,52 *	95,76	92,94	0,99 ***	64,54	58,32	4,88 *

DER= Desviación estandard residual; ns, P>0,05; *, P<0,05; **,P<0,01; ***,P<0,001

La colonización microbiana (tabla 1), expresada como MSmic/MSres (valores medios de 17,1, 10,2 y 4,6 % para la TS, GF y BC, respectivamente) no estuvo directamente relacionada con el contenido en pared celular del alimento, como generalmente se ha encontrado en forrajes (Wanderley et al., 1993). Los valores de colonización obtenidos con la TS y el GF son claramente superiores a los obtenidos por Rodríguez (1994) con suplementos similares (en torno al 5%), si bién los valores presentados por estos autores se refieren a residuos de bolsas previamente sometidas a congelación, proceso que por si solo puede provocar una desadherencia bacteriana de hasta el 50% (resultados propios no publicados). La dieta F provocó una mayor colonización microbiana de los residuos de incubación de los tres suplementos proteicos que la dieta C, siendo las diferencias significativas en el caso de la TS ($P<0,01$) y el GF ($P<0.05$). La contaminación del nitrógeno residual con nitrógeno microbiano (Nmic/Nres) fue del 13,2, 51,5 y 7,2 % para la TS, GF y BC, valores inversamente relacionados con el contenido en nitrógeno de los residuos, y por consiguiente dependientes del contenido inicial en nitrógeno de los suplementos y de su degradabilidad.

La subestimación media de la degradabilidad real debida a la colonización microbiana (tabla 1), estuvo inversamente relacionada con el contenido en nitrógeno de los suplementos (Bernard et al., 1988; Beckers et al., 1995) y fue superior con la ración F (2,03, 6,87 y 3,06 u.p.) que con la C (1,58, 4,47 y 2,76 u.p.), debido a la mayor colonización microbiana con la primera. En consecuencia, el efecto negativo de la concentración energética de la dieta sobre la degradabilidad "*in sacco*" del nitrógeno ($P<0,05$ en la TS y el BC) se puso más claramente de manifiesto en la dgr que en la dga. En el caso del GF, las diferencias en la dga entre dietas fueron prácticamente nulas mientras que las diferencias en la dgr fueron altamente significativas ($P<0,001$).

Bibliografía

Beckers, Y., Thewis, A., Maudoux, B. y François, E. 1995. *J. Anim..Sci.*, **73**,220-227.

Bernard, L., Marvalín, O., Yang, W.Z. y Poncet, C. 1988. *Reprod. Nutr. Dévelop.* **28**,105-106.

Martín-Orúe, S.M., Balcells, J., Guada, J.A. y Castrillo, C. 1995. *J. Anim. Nutr.*, **70**, 296-307.

Michalet-Doreau, B. y Ould Bah, M.Y. 1992. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **40**,57-86.

Pérez, J.F., Rodríguez, C.A., González, J., Balcells, J. y Guada, J.A. 1996. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **62,**251-262.

Rodríguez, C.A. 1994. *Efecto de la contaminación microbiana de los alimentos en el rumen sobre la predicción de la degradabilidad ruminal por técnicas in situ.*. Master of Science. Instituto. C.I.H.E.A.M.

Strange, R.E. 1976. Cold shock. En: *Microbial response to mild stress.* Ed. R.E. Strange. Meadowfield Press, Durham.

Wanderley, R.C., Huber, J.T., Wu, Z., Pessarakli, M. y Fontes, C. Jr. 1993. *J. Anim. Sci.*, **7 1**, 3073-3077.