ESTUDIO *IN VITRO* (RUSITEC) DEL EFECTO DE LA FUENTE DE NITRÓGENO SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA ACTIVIDAD MICROBIANA EN EL RUMEN

M.D. Carro[1] y E.L. Miller[2]

[1] Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24007 LEON
[2] Nutrition Laboratory, University of Cambridge, Cambridge, Reino Unido

Introducción

La literatura científica de los últimos años refleja una gran controversia respecto a la forma en la que los aminoácidos, péptidos, proteína y nitrógeno no proteico (NNP) afectan a la actividad de los microorganismos ruminales que fermentan los hidratos de carbono estructurales y, como consecuencia, a la degradación de estos últimos. Mientras algunos estudios señalan aumentos en la digestibilidad de los hidratos de carbono estructurales al sustituir NNP por nitrógeno proteico (Griswold et al., 1996), otros no ponen de manifiesto ningún efecto. En este trabajo se estudió el efecto de la fuente nitrogenada (NNP, aminoácidos, péptidos y poteína) sobre la fermentación ruminal *in vitro* de los hidratos de carbono estructurales.

Material y métodos

Para evitar la interferencia de otros componentes del alimento, se empleó como sustrato pared celular (Goering y Van Soest, 1970) extraída de un heno de gramíneas y de una pulpa de remolacha. Los tratamientos nitrogenados (calculados para aportar 30 mg N/g materia orgánica fermentable) consistieron en el aporte del 50 % del total de N en forma de amoníaco (NH_4Cl) y el 50 % restante tal y como se describe a continuación:

Tratamiento	Aporte nitrogenado (50%)
AMON (amoníaco)	NH_4Cl
PROT (proteína)	proteína de soja purificada
PEP (péptidos)	hidrolizado peptídico de la proteína de soja
AA (aminoácidos)	mezcla de aminoácidos (perfil de la proteína de soja)

El estudio se llevó a cabo utilizando un rumen artificial de tipo semicontinuo (RUSITEC; Czerkawski y Breckenridge, 1977) provisto de ocho vasijas con un volumen efectivo de 700 ml. Se realizaron dos series de incubación de 14 días de duración: 8 días de adaptación a la dieta y 6 días de medida. En cada una de las series de incubación se asignó cada tratamiento a dos vasijas, de forma que se obtuvieron un total de cuatro réplicas por tratamiento. El alimento (10 g de fibra de heno + 2 g de fibra de pulpa) se incubó diariamente en bolsas de nylon, manteniendose cada bolsa dentro de la vasija durante 48 horas. El aporte de N se realizó mediante infusión continua con una bomba peristáltica.

Durante la realización de este trabajo M.D. Carro disfrutó de una beca de la Unión Europea. Trabajo financiado por la C.I.C.Y.T. (Proyecto AGF94-0026)

El día 1 se inoculó el sistema con contenido ruminal (líquido y sólido) procedente de 3 ovejas fistuladas en el rumen alimentadas con un heno de buena calidad. Durante los días 9, 10 y 11 se determinaron los siguientes parametros: pH, producción de gas (dióxido de carbono y metano), degradabilidad de la pared celular y sus fracciones tras 48 horas de incubación, producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y producción de amoníaco. Durante los días 12 y 13 el efluente procedente de las vasijas se mezcló con el contenido de las bolsas de nylon. El material obtenido se homogeneizó en una batidora y se liofilizó una muestra del mismo (200 g) para determinar su contenido en nitrógeno no amoniacal (NNA).

Los resultados obtenidos se sometieron a análisis de varianza (modelo split-plot) utilizando el procedimiento GLM del Statistical Analysis Systems Institute (SAS, 1985). Los efectos incluidos en el modelo fueron la serie de incubación, la fuente de nitrógeno y el día de muestreo.

Resultados y discusión

Como puede observarse en la Tabla 1 no existieron diferencias entre tratamientos en la cantidad diaria de efluente ni en el pH del líquido de las vajias. En las vasijas que recibieron aminoácidos y proteína como fuente nitrogenada se observó una mayor ($P<0,05$) digestibilidad de la pared celular (FND), de la fibra ácido-detergente (FAD) y de la celulosa (CEL) que en las que recibieron amoníaco, no existiendo diferencias ($P>0,05$) entre los tratamientos amoníaco y péptidos (excepto en el caso de la FAD). En línea con estos resultados, tampoco existieron diferencias significativas en la producción diaria de metano entre los tratamientos **AMON** y **PEP**. Por el contrario, los tratamientos **AA** y **PROT** presentaron una mayor ($P<0,05$) producción de metano y de dióxido de carbono que el tratamiento **AMON**, hechos que concuerdan con la mayor digestibilidad de la pared celular.

En cuanto a la producción de AGV, la sustitución de NNP por N proteico ocasionó en todos los tratamientos (**AA**, **PEP** y **PROT**) un aumento ($P<0,05$) de la producción diaria de todos los ácidos analizados. El aumento en la producción de los ácidos isobutírico, valérico e isovalérico obtenido al sustituir NNP por fuentes nitrogenadas proteicas es debido a la fermentación de los aminoácidos, que produce amoníaco y ácidos grasos de cadena ramificada. Sin embargo, en las vasijas que recibieron amoníaco como única fuente nitrogenada la concentración de estos ácidos se mantuvo siempre en niveles adecuados para el normal funcionamiento de la flora celulolítica.

De forma similar a los resultados obtenidos por otros autores (Griswold et al., 1996), en los tratamientos **AMON** y **AA** la producción diaria de amoníaco fue superior ($P<0,05$) a la presentada por los péptidos y la proteína, indicando una mayor desaminación y/o una menor captación de amoníaco por los

microorganismos ruminales. Por el contrario, los tratamientos **PEP** y **PROT** produjeron una mayor cantidad de NNA (mg/d) que los tratamientos **AMON** y **AA**.

Tabla 1. Principales parámetros de fermentación para los distintos tratamientos (a,b: P<0,05)

	AMON	**AA**	**PEP**	**PROT**	s.e.d.[2]
Efluente (ml/d)	548	554	574	551	15,1
pH	6,84	6,83	6,86	6,84	0,025
Degradabilidad (48 h)					
FND	42,7 ^{a}	46,2 ^{c}	44,1 ^{ab}	45,7 ^{bc}	0,79
FAD	36,4 ^{a}	40,8 ^{c}	38,3 ^{b}	40,3 ^{c}	0,74
CEL	39,6 ^{a}	43,0 ^{bc}	40,9 ^{ab}	43,7 ^{c}	1,05
Gas (mmol/d)					
Dióxido de carbono	45,1 ^{a}	53,0 ^{b}	50,2 ^{b}	50,2 ^{b}	1,68
Metano	11,2 ^{a}	13,1 ^{c}	12,0 ^{ab}	12,3 ^{bc}	0,40
AGV (mmol/d)					
Acético	14,6 ^{a}	20,1 ^{b}	19,3 ^{b}	19,3 ^{b}	0,40
Propiónico	15,8 ^{a}	19,4 ^{bc}	18,2 ^{b}	19,8 ^{c}	0,47
Butírico	1,13 ^{a}	2,38 ^{c}	1,94 ^{b}	1,81 ^{b}	0,085
Otros AGV[1]	1,47 ^{a}	3,61 ^{d}	3,26 ^{c}	2,88 ^{b}	0,082
Total AGV	33,0 ^{a}	45,4 ^{c}	42,7 ^{b}	43,7 ^{bc}	0,86
Partición del N					
N-NH_3 (mg/d)	213^{b}	216^{b}	195^{a}	190^{a}	6,6
NNA (mg/d)	175^{a}	183^{b}	205^{c}	200^{c}	3,0

1 Isobutírico + valérico + isovalérico
2 error estándar de la diferencia

Los resultados obtenidos, especialmente las diferencias en la digestibilidad de la pared celular y en las proporciones de los diferentes AGV podrían indicar cambios en la población microbiana inducidos por la forma en la que se aportó el N.

Referencias bibliográficas

Czerkawski, J.W. y Breckenridge, G., 1977. *Br. J. Nutr.*, 38: 371-384.
Goering, M.K. y Van Soest, P.J. 1970. *Agr. Handb., nº 379*. Agric. Res. Serv., USDA. Washington, USA.
Griswold, K.E., Hoover, W.H., Miller, T.K. y Thayne, W.V. 1996. *J. Anim. Sci.*, 74: 483-491.
Statistical Analysis System Institute. 1985. User's Guide: Statistics. SAS Inst, Cary, NC.