LOS MICROORGANISMOS METANOTROFOS COMO AGENTES MODIFICADORES DE LA FERMENTACIÓN RUMINAL

[1]C. VALDÉS[1], C. J. NEWBOLD[2], K. HILLMAN[2], R. J. WALLACE[2]

[1]Departamento de Producción Animal I. Universidad de León. 24007. León.
[2]Rowett Research Institute. Bucksburn, Aberdeen . AB2 9SB. Reino Unido

Introducción

Uno de los principales fines de la manipulación de la fermentación ruminal mediante el uso de aditivos es disminuir la producción de metano, ya que, además de suponer una ineficiencia del proceso digestivo, el metano es un gas con un potente efecto invernadero. Sin embargo, los intentos para lograr reducir de forma directa la metanogénesis han fracasado (Van Nevel y Demeyer, 1996), por lo que se plantea la necesidad de explorar vías indirectas. Recientemente, se ha demostrado que, en rumiantes, al igual que sucede en otros medios, la cantidad de metano emitida es el resultado del balance entre las actividades sintéticas de los microorganismos metanogénicos y las oxidativas de los metanotrofos (Valdés *et al.*, 1996). Esta última actividad podría incrementarse añadiendo al medio ruminal microorganismos metanotrofos aislados de otros ecosistemas. Para probar esta hipótesis, en este trabajo se compara *in vitro* la producción de metano en ausencia de microorganismos metanotrofos adicionales y en presencia de distintas cepas de levaduras y de bacterias añadidas al medio ruminal.

Material y métodos

Se estudió *in vitro* el efecto en la producción de metano de cepas comerciales de dos levaduras metilotrofas: *Pichia augusta* (NCYC 1457) y *Torulopsis sonerensis* (ATCC 56511); de una levadura metanotrofa: *Sporobolomyces roseus* (NCYC 1609) y de una bacteria metanotrofa: *Methylococcus capsulatus* (NCIMB 11132). Se estudió también el efecto de dos microorganismos aislados por nosotros del contenido cecal de lechones y que denominaremos en lo sucesivo PB1 y PB2.

El líquido ruminal empleado en las incubaciones se obtuvo de tres ovejas fistuladas en el rumen que ingerieron diariamente 1,5 kg de una ración compuesta por heno, cebada, harina de pescado, melazas y suplemento vitamínico mineral

[1] Este trabajo se realizó durante una estancia de C.Valdés en el Rowett Research Institute financiada por una beca postdoctoral del Subprograma de Perfeccionamiento para Doctores y Tecnólogos del Plan para la Formación de Personal Investigador en el Extranjero del Ministerio de Educación y Ciencia.

(500, 299,5, 100, 91 y 9,5 g/kg de materia seca, respectivamente). Inmediatamente después de recoger el líquido ruminal, se filtró a través de una doble capa de gasa.

200 mg de la ración descrita más 10 mg de microorganismo liofilizado (tratamiento) o 10 mg del medio empleado para cultivar los microorganismos (control) fueron incubados a 39 ºC en 10 ml de líquido ruminal de cada una de las ovejas, que se dispensaron por duplicado junto con 40 ml de solución amortiguadora en botes Wheaton (120 ml). Transcurridas 24 h, se determinó la cantidad total de gas producido, midiendo el desplazamiento del émbolo de una jeringuilla de 50 ml. Se tomaron muestras del espacio gaseoso de los botes y se determinó su contenido en metano mediante cromatografía de gases. Las incubaciones se realizaron en dos condiciones: "anaerobiosis" (gaseando con CO_2) y "aerobiosis" (sin gasear con CO_2). La diferencia entre los valores medios correspondientes a cada tratamiento y a su control se contrastó mediante la t de Student.

Resultados y discusión

Como puede observarse en la tabla adjunta , sólo las bacterias PB1 y PB2 redujeron ($P<0,05$) la producción de metano, en un 12 y un 15%, respectivamente, del valor control.

Producción de metano (mmoles/día)

	Anaerobiosis		Aerobiosis	
Microorganismo	Control	Tratamiento	Control	Tratamiento
P. augusta	362±38,84	344±34,37	281±35,27	304±58,48
T. sonerensis	451±31,23	473±27,68	313±40,18	313±23,21
S. roseus	250±31,23	255±17,86	201±22,32	196±26,79
M. capsulatus	306±26,20	306±49,13	134±13,99	128±11,60
PB1	411±34,87	362*±17,54	304±47,95	277±36,74
PB2	411±34,87	348*±10,98	304±47,95	299±44,4

Para cada microorganismo, la diferencia entre la media señalada con asterisco (*) y la media correspondiente al control es significativa ($P<0,05$).

En una prueba paralela se observó que los seis microorganismos empleados en este trabajo mantuvieron, después del proceso de cultivo y posterior liofilización, la

capacidad de oxidar metano produciendo dióxido de carbono, así como la de crecer empleando metano como única fuente de carbono. Así, con la excepción de PB1 y PB2, los microorganismos metanotrofos parecen perder la capacidad de oxidar el metano en presencia de líquido ruminal, lo cual podría atribuirse a la competencia con los microorganismos del rumen, o, incluso, a la presencia de amoníaco en el líquido ruminal, ya que se ha demostrado que el amoníaco afecta negativamente a la oxidación del metano en cultivos puros de metanotrofos (Carlsen *et al.*, 1992) e incrementa el flujo de metano en distintos ecosistemas (Mossier *et al.*, 1991). Sin embargo, PB1 y PB2, aislados de un medio más similar al ruminal, conservan la capacidad de utilizar el metano en el líquido ruminal, aunque, curiosamente, sólo en condiciones de anaerobiosis.

La utilización de PB1 y PB2 en la alimentación práctica es una posibilidad que precisaría de un estudio más extenso, que debería comprender, en principio, el efecto a largo plazo en la producción neta de metano, así como en otros parámetros ruminales, digestivos y productivos.

Bibliografía

Carlsen, H.N., Jøgensen, L. and Degn, H. 1992. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **35:** 124-127.

Mosier, A., Schimel, D., Valentine, D., Bronson, K., Parton, W. 1991. *Nature*, **350:** 330-332.

Valdés, C., Newbold, C.J., Hillmann, K. and Wallace, R.J. 1996. *Ann. Zootech.*, **45, Suppl.:** 351

Van Nevel, C.J. and Demeyer, D.I. 1996. *Environmental Monitoring and Assesment,* **42:** 73-97.