DIGESTIÓN RUMINAL *IN VITRO* DE DOS TIPOS DE PARED CELULAR: EFECTO DE LA FUENTE NITROGENADA

M.J. Ranilla, M.D. Carro, C. Valdés y S. López
Dpto. Producción Animal I. Universidad de León. 24071 León.

INTRODUCCIÓN

Diversos estudios sobre el efecto del aporte de nitrógeno (N) no amoniacal (aminoácidos, péptidos, proteínas) sobre el crecimiento de las bacterias ruminales y sobre la digestión de la fibra, tanto *in vivo* como *in vitro*, han obtenido resultados aparentemente contradictorios. Estos resultados podrían atribuirse a diferencias en la composición de las dietas utilizadas. En la mayoría de los trabajos en los que se observó un efecto positivo de la adición de N no amoniacal, las dietas contenían una proporción importante de hidratos de carbono rápidamente utilizables, sugiriendo que la fermentación ruminal sólo se estimularía en presencia de una fuente de energía adecuada (Cruz Soto et al., 1994). El presente trabajo se llevó a cabo con el fin de estudiar el efecto de la adición de N no amoniacal (en forma de dos niveles de péptidos) a cultivos *in vitro* de microorganismos ruminales sobre la fermentación de dos tipos de pared celular.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los dos sustratos incubados se eligieron por las diferentes características de su pared celular (fibra neutro-detergente, FDN): paja de cebada, cuya pared celular presenta un ritmo de degradación lento, y pulpa de remolacha, con un ritmo de degradación alto. Las paredes celulares de los dos sustratos se obtuvieron mediante lavado del material con detergente neutro (Goering y Van Soest, 1970), y su composición química se recoge en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química (g/kg materia seca) de las paredes celulares de paja de cebada y pulpa de remolacha incubadas

	Paja de cebada	Pulpa de remolacha
Hemicelulosa	311	318
Celulosa	576	471
Lignina	34	33

Las muestras fueron molidas utilizando una malla de 1 mm y se incubaron *in vitro* siguiendo la técnica descrita por Menke y Steingass (1988). Las muestras (500 mg de FND) se incubaron en botellas de 125 ml de volumen a las que se añadieron 50 ml de una mezcla de líquido ruminal y del medio de cultivo (1:4 v/v) descrito por Goering y Van Soest (1970). Como inóculo se utilizó líquido ruminal procedente de cinco ovejas Merinas fistuladas en el rumen alimentadas con un heno de buena calidad, al que se añadió una disolución de ácidos isobutírico, valérico e isovalérico en concentraciones adecuadas para no limitar el crecimiento microbiano.

Se utilizaron tres tipos de fuente nitrogenada que aportaron 8 mg de N por botella: amoníaco (cloruro amónico, A), y otras dos como una mezcla de N-amoniacal y péptidos (tripticasa) en proporciones 2:1 (concentración de péptidos baja, B) y 1:2 (concentración de péptidos alta, M).

Para cada tipo de fibra se incubaron 9 botes (tres por tratamiento) a 39°C, en los que se registró la producción de gas a las 3, 6, 9, 12, 16, 19, 24, 30, 36, 48, 60,

Trabajo financiado por la C.I.C.Y.T. (AGF 98-0188) y por la J.C.Y.L. (LE29/98)

72, 96, 120, 144 y 168 horas. Transcurridas las 168 horas de incubación, la fermentación en los tubos se detuvo mediante su introducción en un baño de hielo y su contenido se filtró a través de bolsas de material poroso (tamaño de poro 20µm) en las que se recogió el residuo que se lavó con agua destilada y se secó en estufa a 80ºC durante 48 horas para determinar su contenido en las distintas fracciones de la pared celular. Se recogió además una muestra del líquido filtrado para determinar la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV).

Los datos de producción de gas se ajustaron al siguiente modelo exponencial: $gas = D_{\infty}(1-e^{-c(t-lag)})$, en el que D_{∞} es la producción potencial de gas, c es el ritmo fraccional de producción de gas y *lag* es el tiempo que transcurre hasta que se inicia la producción de gas. La degradabilidad efectiva de la FND (DE) se calculó para ritmos de paso de 0,025 y 0,04 por hora utilizando la fórmula propuesta por France et al. (1998). El efecto del tipo de fuente nitrogenada sobre la fermentación *in vitro* de la FND de la paja de cebada y la pulpa de remolacha se estudió mediante análisis de varianza y se realizaron los siguientes contrastes: Amoníaco *vs* Suplementación con péptidos (C1) y Concentración de péptidos baja *vs* Concentración de péptidos alta (C2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando los datos obtenidos para los dos tipos de FND se analizaron de forma conjunta, la interacción tipo de fibra x tratamiento nitrogenado fue significativa ($P<0,05$) para la mayoría de los parámetros estudiados. Este hecho indica que la respuesta al tipo de fuente nitrogenada fue distinta en los dos tipos de FND incubados, y por ello en la Tabla 2 se exponen los valores obtenidos para cada una de ellas. Así, mientras que la desaparición de FND de paja de cebada tras 168 horas de incubación no se vio afectada ($P>0,05$) por la fuente de N, la correspondiente a la pulpa de remolacha fue mayor ($P<0,001$) cuando los microorganismos dispusieron de N no amoniacal en el medio, si bien las diferencias entre los dos niveles de péptidos no fueron significativas ($P>0,05$). Estos resultados están en línea con los obtenidos por otros autores (Cruz Soto et al., 1994), y podrían indicar un efecto positivo sobre la fermentación de la adición de N no amoniacal en presencia de una fuente de energía rápidamente disponible.

Sin embargo, para los dos sustratos utilizados el tiempo de retraso (*lag*) fue menor ($P<0,001$) cuando se incubaron en presencia de N no amoniacal, aunque no hubo diferencias entre los dos niveles de péptidos. Este hecho podría deberse a que la presencia de péptidos favoreciese la actividad inicial de los microorganismos celulolíticos. Entre los dos tipos de pared celular, el tiempo de retraso fue menor para la pulpa de remolacha, representando como media el 59% del tiempo de retraso de la paja de cebada.

Por otra parte, la DE fue mayor ($P<0,001$) cuando la pulpa de remolacha se incubó en presencia de péptidos que de N amoniacal, y tendió ($P=0,08$) a aumentar al aumentar la concentración de los mismos en el medio para los dos ritmos de paso utilizados. En el caso de la paja de cebada, la presencia de péptidos en el medio de incubación no afectó a la DE estimada para un ritmo de paso de 0,025. Para un ritmo de paso de 0,04, la DE de la paja fue mayor ($P<0,05$) en presencia de N no amoniacal, sin que existieran diferencias entre los dos niveles de péptidos para ninguno de los ritmos de paso utilizados.

Tabla 2. Desaparición de FND (DFND), concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), parámetros de la curva de producción de gas (D_∞, c y *lag*) y degradabilidad efectiva (DE) estimada para ritmos de paso de 0,025 por h (DE 0,025) y 0,04 por h (DE0,04) para muestras de paja de cebada y de pulpa de remolacha incubadas *in vitro* durante 168 h.

		A	B	M	e.e.d.	C1	C2
Paja de cebada	DFND(%)	80,3	80,2	79,4	0,40	ns	ns
	AGV (mmol/l)	95,2	98,5	102,2	1,45	**	*
	D_∞ (ml)	169,1	171,0	173,3	1,68	†	ns
	c (h^{-1})	0,034	0,032	0,030	0,0008	**	*
	lag (h)	15,7	13,6	13,3	0,37	***	ns
	DE 0,025	31,2	32,2	31,1	0,51	ns	ns
	DE 0,04	18,7	19,9	19,1	0,43	*	ns
Pulpa de remolacha	DFND(%)	87,4	89,9	90,7	0,73	***	ns
	AGV (mmol/l)	123,4	120,8	123,1	4,36	ns	ns
	D_∞ (ml)	229,8	230,2	227,0	1,82	ns	ns
	c (h^{-1})	0,036	0,035	0,036	0,0010	ns	ns
	lag (h)	9,8	8,04	7,8	0,36	***	ns
	DE 0,025	40,7	43,1	44,1	0,49	***	†
	DE 0,04	27,2	29,6	30,4	0,40	***	†

e.e.d.: error estándar de la diferencia
ns = no significativo; †: P<0,10; *: P<0,05; **: P<0,01; ***: P<0,001
Contrastes: C1: Amoniaco *vs* Suplementación con péptidos (A *vs* B y M); C2: Concentración de péptidos baja *vs* Concentración de péptidos alta (B *vs* M)

El tipo de fuente nitrogenada no afectó (P>0,05) a la producción de AGV en el caso de la pulpa, pero sí fue mayor cuando la paja de cebada se incubó con péptidos que con N amoniacal (P<0,01), siendo la producción mayor (P<0,05) con el nivel alto de péptidos.

El ritmo de producción de gas (c) disminuyó (P<0,01) con la inclusión de péptidos en el medio de incubación de la paja, y fue mayor (P<0,05) con el nivel bajo de péptidos que con el alto. La producción potencial de gas (D_∞) tendió a aumentar (P=0,05) cuando se incubó paja de cebada en presencia de una fuente de N no amoniacal, pero no se observaron diferencias entre los dos niveles de péptidos. Sin embargo, el tipo de fuente nitrogenada no afectó (P>0,05) al ritmo de producción de gas cuando se incubó la pulpa de remolacha ni a su producción potencial de gas cuando se incubó pulpa de remolacha.

Los resultados obtenidos confirman que el efecto del tipo de fuente nitrogenada (N amoniacal *vs* N no amoniacal) sobre la fermentación ruminal *in vitro* de sustratos fibrosos depende de las características de los sustratos incubados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cruz Soto, R., Muhammed, S.A., Newbold, C.J., Stewart, C.S. and Wallace, R.J. 1994. *Animal Feed Science and Technology* 49:151-161

France, J., López, S., Dijkstra, J., Sanderson, R. and Dhanoa, M.S. 1998. *In vitro techniques for measuring nutrient supply to ruminants* : 79-80. Ocasional Publication n 22, Ed. BSAS

Goering, M.K. and 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