EFECTOS DEL NIVEL DE FIBRA Y DEL TAMAÑO DE PARTÍCULAS SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y EL METABOLISMO DEL N *IN VITRO*

M. Rodríguez, S. Calsamiglia, A. Ferret

Dept. de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193-Bellaterra. España

INTRODUCCIÓN

Los forrajes constituyen la fuente principal de fibra para los rumiantes. El vacuno lechero de alta producción requiere la formulación de raciones con un elevado contenido de concentrado. Además, y para estimular la ingestión de alimentos, se recomienda la administración de forrajes picados. El estudio del efecto del nivel de forraje y su tamaño de partícula *in vivo* resulta difícil, ya que se producen paralelamente cambios en la ingestión, ritmos de digestión o paso, pH ruminal y/o la población microbiana ruminal (Beever, 1993, Grant *et al.*, 1990). Los sistemas de fermentación *in vitro*, constituyen un buen modelo de simulación del funcionamiento ruminal que permiten estudiar, de forma aislada, los efectos del nivel de forraje y su tamaño de partícula, manteniendo el resto de factores constantes.

Por otra parte, es importante conocer el aporte de la proteína de origen microbiano al flujo total de proteína que llega al intestino delgado del rumiante. Las estimaciones del flujo duodenal de proteína (total, bacteriano y alimentario), se calculan normalmente utilizando bacterias asociadas con la fracción líquida (BL), a pesar de que la población bacteriana asociada a la fracción sólida (BS) representa aproximadamente un 80% de la población bacteriana total (Craig *et al.*, 1987). Este hecho puede conducir a variaciones en los cálculos e interpretación de los resultados obtenidos, especialmente cuando la cantidad de forraje o su tamaño de partícula pueden influir en la proporción de BL y BS.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del nivel de fibra (F) en la ración y el tamaño de sus partículas (P) sobre la fermentación microbiana ruminal y el metabolismo del N utilizando como referencia los valores obtenidos del análisis de BL y BS en un sistema de cultivo continuo de flujo doble.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 fermentadores continuos de flujo doble (Calsamiglia *et al.* 1999), inoculados con líquido ruminal extraído de dos vacas provistas de cánula ruminal. El experimento se realizó en dos periodos consecutivos de 10 días cada uno (7 de adaptación y 3 de muestreo). El diseño experimental fue bloques al azar, con arreglo factorial de tratamientos, siendo el nivel de forraje (Alto: FA=67% y Bajo: FB=39%) y tamaño de partícula (Grande: PG= $\geq$ 3-mm y Pequeño: PP= $\leq$ 1-mm), los factores principales. Las dietas fueron la combinación de los factores principales y se suministraron a razón de 95 gMS/d en 4 porciones iguales a intervalos de 6 h. La temperatura (39ºC), el pH (6.4), y la tasa de dilución de líquidos (10 %/h) y sólidos (5 %/h) se mantuvieron constantes. Durante los días de muestreo, los efluentes permanecieron a 4ºC, de donde se tomaron muestras para su posterior análisis (MS, MO, FND, FAD, ácidos grasos volátiles (AGV), nitrógeno total y amoniacal y bases púricas). Los pellet bacterianos se obtuvieron del fermentador el último día de muestreo. Las BL se obtuvieron por filtración y centrifugación diferencial, mientras que las BS se obtuvieron del residuo sólido, tras ser sometidas a varios métodos de desligamiento (Whitehouse *et al.*, 1994), filtración y centrifugación diferencial. Los

datos obtenidos fueron analizados utilizando el procedimiento GLM del SAS (1988) y la comparación de medias se realizó mediante LSMEANS. La comparación entre grupos bacterianos se realizó mediante un test pareado (TTEST).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observó interacción entre F y P en ninguna de las variables evaluadas. Las dietas FB presentaron mayor digestibilidad aparente de la MS (44.6 vs 41.6 %) y de la MO (35.5 vs. 31.3 %) que las dietas FA ($P<0.05$). Sin embargo, la digestibilidad real de la MS, MO y fibra no se vieron afectadas por F o P. No se observó efecto de F o P sobre la concentración de $N\text{-}NH_3$ ó el flujo de N total, amoniacal o no amoniacal. El flujo de N de origen bacteriano resultó menor en las dietas FB (Tabla 1) cuando se utilizó el valor de BS en el cálculo, mientras que al utilizar BL, el flujo se vió afectado por P, siendo mayor en PP respecto a PG (Tabla 1). La eficacia de síntesis de proteína microbiana, expresada como g de N bacteriano por kg MO realmente digerida (g/kgMORD) resultó superior en FA comparado con FB cuando se utilizó BS en el cálculo, mientras que fue mayor en PP vs PG cuando se utilizó BL (Tabla 1).

Tabla 1. Efectos del nivel de fibra y del tamaño de partículas sobre el metabolismo del nitrógeno *in vitro*.

Item	GB[1]	Nivel de Fibra		Tamaño de partícula		EE
		FA	FB	PG	PP	
$N\text{-}NH_3$, mg/100 ml		17.8	18.6	18.6	17.8	1.25
Flujo de nitrógeno, g/d						
Total		3.02	3.01	3.00	3.03	0.05
Alimentario	BL	1.32	1.42	1.46	1.29	0.07
	BS	1.17	1.41	1.35	1.23	0.10
Bacteriano	BL	1.13	1.00	0.96 [b]	1.18 [a]	0.06
	BS	1.29 [a]	1.02 [b]	1.08	1.24	0.09
Degradación PB, %	BL	51.9	46.9	46.7	52.1	2.53
	BS	57.5	47.5	50.7	54.3	3.77
Eficacia de síntesis,	BL	30.9	27.5	27.0 [b]	31.3 [a]	1.35
g/kgMORD	BS	33.3 [a]	26.8 [b]	28.8	31.3	1.33

[1] GB= considerando las bacterias asociadas a las fracciones líquida (BL) o sólida (BS).
[a,b] Medias con letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P<0.05$).

La producción total de AGV (Tabla 2) fue mayor en las dietas FB comparado con FA, dada la mayor disponibilidad de carbohidratos para la fermentación. Por otra parte, se observó una mayor proporción de acetato en FA comparado con FB ($P<0.05$). La proporción molar de ácidos grasos de cadena ramificada (isovalerato e isobutirato) fue mayor en las dietas FA comparado con las dietas FB ($P<0.05$), aunque estas diferencias no se correspondieron con diferencias en la degradación de la proteína. El tamaño de partícula también afectó al perfil de fermentación: Las dietas PP tuvieron una menor proporción de acetato y relación acetato:propionato, y una mayor proporción molar de butirato comparado con dietas de PG.

Tabla 2. Efectos del nivel de fibra y del tamaño de partículas sobre la producción y perfil de ácidos grasos volátiles (AGV) *in vitro*.

Item	Nivel de Fibra		Tamaño de partícula		EE
	FA	FB	PG	PP	
Ácidos grasos volátiles Totales, mM	102.2 [a]	121.6 [b]	112.1	111.8	3.07
Proporción molar, %					
Acetato	63.5 [a]	58.3 [b]	63.4 [a]	58.3 [b]	1.31
Propionato	21.5	25.2	22.2	24.5	1.60
Butirato	10.9	11.8	9.9 [b]	12.8 [a]	0.49
Ramificados	1.7 [b]	2.4 [a]	2.1	2.1	0.18
Acetato:propionato	3.0	2.5	3.1 [a]	2.4 [b]	0.21

[a,b] Medias con letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P<0.05$).

CONCLUSIONES

El nivel de fibra en la ración afectó a la fermentación ruminal. Dietas FB presentaron una mayor digestibilidad aparente de la MS y MO, producción total de AGV y la concentración de AGV ramificados y una menor proporción molar de acetato comparado con dietas FA. El tamaño de partícula afectó a la proporción molar de acetato y la relación acetato:propionato que fue mayor en dietas PG, y a la concentración de butirato, que fue mayor en PP. Estos efectos fueron independientes del pH, ingestión o tasas de dilución de líquidos y sólidos.

Las estimaciones del flujo de N de origen bacteriano y la eficacia de síntesis de proteína microbiana variaron en función del nivel de fibra y el tamaño de partícula. Sin embargo, el efecto fue dependiente del tipo de población bacteriana utilizada en los cálculos, lo cual puede conllevar a diferencias en la estimación y/o interpretación del flujo de nitrógeno de origen bacteriano o dietario que escapa del rumen.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Beever, D.E. 1993. Rumen function. In: J.M. Forbes & J. France (eds). Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism CAB International. London, pp. 187-215.

Calsamiglia, S., A. Ferret, J. Plaixat, M. Devant. Effect of pH and pH fluctuations on microbial fermentation in a continuous culture system. J. Dairy Sci. 82 (Suppl. 1): P34.

Craig, W, G. Broderick, D. Bradford. 1987. Quantitation of microorganisms associated with the particulate phase of ruminal ingesta. J. Nutrition 117:56.

Grant, R.J., V-F. Colenbrander. 1990. Milk fat depression in dairy cows: role of particle size of alfalfa hay. J. Dairy Sci. 73: 1823.

Whitehouse, N.L., V.M. Olson, C.G. Schwab, W.R. Chesbro, K.D. Cunningham, T. Lycos. 1994. Improved techniques for dissociating particle associated mixed ruminal microorganisms from ruminal digesta solids. J. Anim. Sci. 72: 1335.

Statistical Analysis System. 1988. SAS user's guide. SAS Institute, Cary, NC.