ESTUDIO DEL PERFIL Y FLUJO DE AMINOÁCIDOS DE ORIGEN BACTERIANO EN UN SISTEMA DE CULTIVO CONTÍNUO. EFECTO DEL NIVEL DE FIBRA Y EL TAMAÑO DE PARTÍCULA

M. Rodríguez, S. Calsamiglia, A. Ferret

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

INTRODUCCIÓN

Los actuales sistemas de racionamiento para el vacuno lechero (p.e. INRA, 1989; NRC, 2000) incluyen las necesidades y el aporte de aminoácidos (AA) al intestino delgado en sus modelos de predicción. Una proporción importante de los AA que fluyen al intestino delgado son de origen microbiano (50-80%; Storm y Ørskov, 1983). Aunque la población microbiana adherida a la fracción sólida (BS) constituye aproximadamente un 80% de la población microbiana total del rumen (Craig *et al.*, 1987), en la mayoría de los estudios realizados se utiliza la población microbiana asociada a la fracción líquida (BL) como población de referencia, ya que se asume que no existen diferencias importantes entre dichas poblaciones. Sin embargo, se han demostrado diferencias importantes entre poblaciones en su composición química y en el perfil de AA (Clark *et al.*, 1992; Martin *et al*, 1996).

Por otra parte, factores relacionados con la dieta (relación forraje : concentrado, nivel de fibra en la ración, ...) o con el tamaño de partícula, pueden afectar los patrones de fermentación ruminal (Grant *et al.*, 1990). Sin embargo, los efectos que ejercen dichos factores sobre el perfil y/o la contribución de AA de origen microbiano han sido poco estudiados. 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 el perfil y flujo de AA de origen microbiano en un sistema de cultivo contínuo de flujo doble.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 fermentadores contínuos 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 en bloques al azar, con arreglo factorial de tratamientos, siendo el nivel de forraje (Alto: FA=67% y Bajo: FB=39%) y el tamaño de partícula (Grande: PG $\geq$ 3mm y Pequeña: 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. Los pellet bacterianos se obtuvieron del contenido total del fermentador. Las BL se obtuvieron por filtración y centrifugación diferencial (1000g x 10 min, seguido de 20000g x 20 min), mientras que las BS se obtuvieron del residuo sólido, tras la aplicación de varios métodos de desligamiento (Whitehouse *et al.*, 1994), y el mismo proceso de filtración y centrifugación diferencial que las BL. En ambos grupos bacterianos se determinó el contenido en MS, N, bases púricas y perfil de AA. El flujo de AA se calculó a partir de los gAA/gMS bacteriana multiplicado por el flujo bacteriano (g/d), siendo éste último estimado a partir de la relación bases púricas:N de cada grupo bacteriano. Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el procedimiento GLM del SAS (1988) y la comparación de medias se realizó mediante LSMEANS. La comparación del perfil y flujo de AA entre ambos grupos bacterianos se realizó mediante un test pareado (TTEST).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron interacciones entre los efectos principales para ninguno de los AA, excepto para el flujo de Lys cuando se consideraron las BL. En consecuencia, los resultados se presentan según los efectos principales. Los resultados del efecto de F y P sobre el perfil y flujo de AA de origen bacteriano se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Efectos del nivel de fibra y del tamaño de partículas sobre el perfil y flujo de aminoacidos de origen microbiano estimado a partir de las bacterias asociadas a la fracción líquida (BL) o sólidas (BS).

AA	GB	Perfil AA (g/100 g AA)				Flujo AA (g/d)				EE
		Fibra		Partícula		Fibra		Partícula		
		AF	BF	PG	PP	AF	BF	PG	PP	
Thr	BL	6.08	6.26	6.19	6.14	0.45	0.34	0.35	0.44	0.09
	BS	6.07	6.12	6.01^{b}	6.19^{a}	0.54^{c}	0.36^{d}	0.39	0.51	0.05
Arg	BL	3.58^{c}	3.44^{d}	3.52	3.50	0.40^{c}	0.28^{d}	0.30	0.38	0.05
	BS	3.67^{c}	3.56^{d}	3.61	3.62	0.50^{a}	0.32^{b}	0.35	0.46	0.04
Val	BL	5.65	5.62	5.57	5.70	0.54	0.39	0.40	0.52	0.12
	BS	5.53	5.53	5.51	5.54	0.64^{c}	0.42^{d}	0.46	0.59	0.04
Met	BL	1.23	1.27	1.28	1.22	0.15	0.12	0.12	0.14	0.05
	BS	1.19	1.25	1.25	1.20	0.18	0.12	0.14	0.16	0.06
Ile	BL	4.69^{b}	4.93^{a}	4.88	4.74	0.47	0.37	0.37	0.47	0.07
	BS	4.76^{a}	4.53^{b}	4.55^{d}	4.74^{c}	0.58^{a}	0.37^{b}	0.41	0.54	0.07
Leu	BL	6.20	6.14	6.35	6.17	0.57	0.43	0.44	0.55	0.06
	BS	6.23	6.14	6.23	6.15	0.69^{c}	0.45^{d}	0.50	0.64	0.05
Phe	BL	3.48	3.52	3.54	3.46	0.35^{c}	0.26^{d}	0.27	0.33	0.04
	BS	3.52	3.46	3.52	3.47	0.43^{c}	0.28^{d}	0.31	0.39	0.03
Lys	BL	11.69^{c}	12.42^{d}	12.02	12.10	0.61	0.48	0.48	0.62	0.25
	BS	11.34	11.34	11.10^{b}	11.50^{a}	0.73^{c}	0.48^{d}	0.52	0.69	0.13
His	BL	2.58	2.47	2.56	2.49	0.12^{c}	0.08^{d}	0.09	0.11	0.06
	BS	2.68	2.55	2.62	2.61	0.15^{a}	0.09^{b}	0.10	0.14	0.08
AAE[1]	BL	45.2^{d}	46.3^{c}	45.9	45.5	3.65^{c}	2.74^{d}	2.82	3.57	0.41
	BS	45.0	44.5	44.4	45.1	4.43^{c}	2.89^{d}	3.18	4.13	0.26
AANE[2]	BL	54.8^{c}	53.7^{d}	54.1	54.5	3.46^{c}	2.49^{d}	2.62	3.34	0.41
	BS	55.9	55.5	55.6	54.9	4.25^{c}	2.84^{d}	3.14	3.94	0.26
Total	BL	-	-	-	-	7.11^{c}	5.24^{d}	5.44	6.90	0.71
	BS	-	-	-	-	8.67^{c}	5.73^{d}	6.33	8.08	1.03

[1] AAE=Incluye Thr,Arg,Val,Met,Ile,Leu, Phe, Lys, His. [2] AANE=Incluye Ala,Asp,Glu,Gly,Pro,Ser,Tyr.
[a,b] Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas (P<0.05)
[c,d] Letras distintas en una misma fila indican tendencia (P<0.10)

De forma general se puede afirmar que el perfil de AAE se vió afectado poco por F o P. Sólo se observaron diferencias significativas (P<0.05) debidas a F en el porcentaje de Ile. No obstante, la interpretación de los resultados varía según el grupo bacteriano considerado en los cálculos. El porcentaje de Ile resultó superior en BF cuando se utilizó BL en los cálculos, mientras que al utilizar BS, el mayor porcentaje correspondió a AF. Asimismo, se observó una tendencia (P<0.10) hacia un mayor porcentaje de Arg y AAE (utilizando BL) en dietas AF, y de Lys en dietas BF (utilizando BL). Cuando se estudió el efecto de P sobre el perfil de AA esenciales, también se detectaron diferencias significativas (P<0.05) para Thr y Lys, y una tendencia para Ile cuando las BS se utilizaron en los cálculos.

Con respecto al flujo de AA esenciales de origen bacteriano (Tabla 1), sólo se observó efecto del nivel de fibra en la ración sobre el flujo de Ile e His (utilizando BS en los cálculos), resultando siempre mayor con AF versus BF. Igual tendencia (P<0.10) se observó para el perfil de un gran número de AAE, tal como se puede apreciar en la Tabla 1. El P no afectó al flujo de ninguno de los AA analizados, aunque si se observó interacción en el flujo de Lys (P<0.05).

Los resultados de la comparación del perfil y flujo de AA esenciales entre BL y BS se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Diferencias en el perfil (%) y flujo (g/d) de AA entre bacterias asociadas a las fracciones líquida ysólida *in vitro*.

AA	Perfil AA[1] (g/100 g AA)			Flujo AA[1] (g/d)		
	BL	BS	EE	BL	BS	EE
Thr	6.17	6.10	0.08	0.39[b]	0.45[a]	0.02
Arg	3.51[b]	3.62[a]	0.04	0.34[b]	0.41[a]	0.07
Val	5.64	5.53	0.06	0.46[b]	0.53[a]	0.03
Met	1.25	1.22	0.04	0.13[d]	0.15[c]	0.01
Ile	4.81	4.65	0.10	0.42[b]	0.47[a]	0.02
Leu	6.26	6.19	0.06	0.50[b]	0.57[a]	0.03
Phe	3.50	3.49	0.03	0.30[b]	0.35[a]	0.02
Lis	12.06[a]	11.34[b]	0.18	0.55	0.60	0.03
His	2.53	2.61	0.05	0.10[b]	0.12[a]	0.01
AAE[2]	45.7[a]	44.7[b]	0.33	3.19[b]	3.66[a]	0.19
AANE[3]	54.3[b]	55.3[a]	0.33	2.98[b]	3.54[a]	0.19
Total	100	100	--	6.16[b]	7.20[a]	0.38

[1] Considerando bacterias asociadas a las fracciones líquida (BL) ó sólida (BS).
[2] Incluye Thr; Arg; Val; Met; Ile; Leu; Phe; Lys; His.
[3] Incluye Ala; Asp; Glul; Gly; Pro; Ser; Tyr.
[ab] Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P<0.05$)
[cd] Letras distintas en una misma fila indican tendencia ($P<0.10$)

Se observaron diferencias en el perfil de ciertos AAE (Arg, Lys, AAE y AANE) entre BL y BS. Sin embargo, las mayores diferencias se apreciaron en la estimación del flujo de AA bacteriano, donde a excepción de la Lys ($P>0.10$) y Met ($P<0.06$), el flujo de AA resultó superior cuando se utilizó BS en el cálculo, independientemente de los factores principales considerados.

CONCLUSIONES

El F y P resultaron en diferencias significativas en el perfil de determinados AAE, variando además, según la población bacteriana considerada en los cálculos. Sin embargo, la magnitud de dicha diferencia puede considerarse biológicamente poco relevante.

El flujo de AAE de origen bacteriano fue estadística y biológicamente mayor en FA, aunque la magnitud en la diferencia resultó dependiente de la población bacteriana utilizada en los cálculos. La estimación del flujo de AA de origen bacteriano resultó, en promedio, un 15.7% mayor cuando se utilizó BS versus BL, independientemente de los factores principales considerados. Por lo tanto, es importante estimar el aporte relativo de ambas poblaciones bacterianas para predecir correctamente el flujo de AA de origen bacteriano que llegana l intestino delgado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Calsamiglia, S., A. Ferret, J. Plaixat, M. Devant. J. Dairy Sci. 82 (Suppl. 1): P34.
Clark, J.H., T.H. Klusmeyer, M.R. Cameron. 1992. J. Dairy Sci. 75: 2304.
Craig, W, G. Broderick, D. Bradford. 1987. J. Nutrition 117:56.
Grant, R.J., V.F. Colenbrander, D.R. Mertens. 1990. J. Dairy Sci. 73:1823.
Martin, C., L. Bernard, B. Michalet-Doreau.1996. J. Anim. Sci. 74: 1157.
Statistical Analysis System. 1988. SAS Institute, Cary. NC.
Storm, E., E.R. Ørskov. 1983. Br. J. Nut. 50: 479.
Whitehouse, N.L., V.M. Olson, C.G. Schwab, W.R. Chesbro, K.D. Cunningham, T. Lycos. 1994. J. Anim. Sci. 72: 1335.