COMPARACIÓN DE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA EN EL RUMEN DE OVEJAS Y EN FERMENTADORES SEMICONTINUOS (RUSITEC)

M.J. Ranilla, M.L. Tejido y M.D. Carro

Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 LEÓN

INTRODUCCIÓN

Debido a los problemas laborales y éticos que plantea la utilización de animales fistulados en el aparato digestivo en la experimentación en nutrición animal, se han desarrollado varios métodos que permiten simular la fermentación ruminal. Entre los métodos más utilizados se encuentran los fermentadores de tipo continuo y semicontinuo. Sin embargo, a pesar del gran número de trabajos publicados en los que se utilizan fermentadores, existen muy pocos en los que se comparen los parámetros fermentativos obtenidos en estos aparatos con los observados en el rumen de los animales (Mansfield et al., 1995). En este trabajo se compara la fermentación microbiana en el rumen de ovejas y en fermentadores semicontinuos cuando ambos recibieron las mismas raciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando un rumen artificial de tipo semicontinuo (Rusitec) provisto de ocho vasijas y cuatro ovejas fistuladas en el rumen. Ambos recibieron 2 raciones que consistieron en heno de alfalfa y concentrado (maíz, cebada y soja) en proporción 80:20 (ración **C20**) y 20:80 (ración **C80**). Cada oveja recibió diariamente 1,035 kg de materia seca (MS) administrados en dos porciones iguales a las 9:00 y 21:00 horas. El procedimiento experimental y los resultados obtenidos en la prueba *in vivo* han sido descritos por Carro et al. (2000).

En cuanto a la prueba *in vitro*, el día 1 se inoculó el sistema Rusitec con contenido ruminal (líquido y sólido) procedente de 4 ovejas fistuladas en el rumen alimentadas con heno de alfalfa y concentrado en proporción 50:50. La ración se incubó diariamente en el Rusitec en bolsas de nylon (15,6 g MS/ día a las 9:00 h) y se mantuvo cada bolsa dentro de la vasija durante 48 horas. Durante los días 9, 10 y 11 se determinaron los siguientes parámetros: pH, degradabilidad de la ración tras 48 horas de incubación y la producción de ácidos grasos volátiles (AGV). El día 12 se midió el pH del líquido de cada vasija a las 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 horas tras la administración de alimento. Durante los días 13 y 14 se determinó la síntesis microbiana en las fases sólida (residuo de las bolsas de nylon) y líquida (efluente) de la digesta. Para ello se realizó una infusión continua de ^{15}N desde el día 9 hasta el final del experimento. Como muestras de referencia se aislaron bacterias asociadas a la fase sólida y a la fase líquida de la digesta y se calculó el crecimiento microbiano en ambas fases.

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza factorial y los efectos incluidos en el modelo fueron el método de estudio (oveja *vs* Rusitec), el tipo de ración (**C20** *vs* **C80**) y la interacción método de estudio x tipo

Trabajo financiado por la J.C.Y.L. (LE29/98 y LE38/01) y por la C.I.C.Y.T. (AGF98-0188)

de ración. Dada la existencia de interacciones significativas en algunos de los parámetros, el efecto del tipo de ración se analizó independientemente para cada método de estudio mediante una prueba *t* de Student.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como puede observarse en la Tabla 1 no existieron diferencias ($P>0,05$) entre el pH del rumen y el de las vasijas cuando éste se midió inmediatamente antes de la administración de alimento. En el rumen de las ovejas el pH descendió de forma acusada tras la ingestión de la ración, mientras que en los fermentadores el pH no descendió de 6,0 con ninguna de las dos raciones. Debido a ello, los valores medios de pH durante las 12 horas posteriores a la administración de alimento fueron inferiores ($P<0,01$) en el rumen de las ovejas que en los fermentadores. Este hecho se debió a la fuerte capacidad amortiguadora de la saliva artificial utilizada en los fermentadores. Tanto las ovejas como los fermentadores que recibieron la ración **C20** presentaron un pH superior ($P<0,05$) al de los que recibieron la ración **C80**, por lo que la interacción método de estudio x tipo de ración no fue significativa ($P>0,05$).

No existieron diferencias significativas ($P>0,05$) entre raciones en la concentración de AGV con ninguno de los métodos de estudio (Tabla 1), aunque las concentraciones en el rumen de las ovejas fueron mayores ($P<0,001$) que las observadas en los fermentadores. Comparada con la ración **C20**, la ración **C80** provocó una disminución ($P<0,05$) de la proporción de ácido acético y un aumento ($P<0,05$) en la proporción de ácido butírico tanto en el rumen de las ovejas como en los fermentadores. El tipo de ración no afectó ($P>0,05$) a la proporción molar de ácido propiónico en el rumen de las ovejas, mientras que en los fermentadores la ración **C80** produjo una menor ($P<0,05$) proporción de ácido propiónico que la ración **C20** (12,3 y 16,7 mol/mol, respectivamente). Como consecuencia de ello, la interacción método de estudio x ración fue estadísticamente significativa ($P<0,01$) para la proporción molar de ácido propiónico y para la relación acético/propiónico. Dado el efecto que el pH ruminal tiene sobre la producción de AGV en el rumen (Russell, 1998), es posible que las diferencias de pH observadas entre el rumen de las ovejas y los fermentadores puedan haber ocasionado estos cambios en las proporciones molares de AGV.

En ambos métodos de estudio la digestibilidad aparente de la materia orgánica en el rumen (DMOR) fue mayor ($P<0,05$) para la ración **C80** (Tabla 1), aunque los fermentadores presentaron valores mayores ($P<0,001$) que las ovejas. Hay que tener en cuenta que en los fermentadores la ración se incuba en bolsas de nylon, por lo que existen pérdidas físicas de partículas que pueden ocasionar una sobreestimación de la DMO.

En cuanto al crecimiento microbiano y su eficiencia, en ambos métodos fueron mayores ($P<0,05$) con la ración **C80** que con la ración **C20** (Tabla 1), si bien los valores obtenidos fueron mayores ($P<0,001$) en las ovejas que en los fermentadores para las dos raciones. La eficiencia del crecimiento microbiano ruminal se ve afectada por numerosos factores. Dado que alguno de estos

factores, como son el ritmo de dilución, el tiempo de permanencia del alimento en el rumen y la frecuencia de alimentación, no fueron los mismos en las ovejas que en los fermentadores es comprensible que se hayan obtenido valores diferentes en cada método de estudio.

Los resultados obtenidos indican que los fermentadores reprodujeron las diferencias entre raciones obtenidas *in vivo* en la mayoría de los parámetros ruminales. Sin embargo, posiblemente la simulación de la fermentación ruminal de la ración **C80** hubiera sido más adecuada si se hubieran logrado valores de pH similares a los observados en el rumen de las ovejas.

Tabla 1. Efecto del método de estudio (oveja *vs* Rusitec; MET) y de la ración (**C20** *vs* **C80**; RAC) sobre los principales parámetros de fermentación ruminal

	Oveja		Rusitec			Significación estadística	
	C20 (n = 4)	**C80** (n = 4)	**C20** (n = 4)	**C80** (n = 4)	e.e.d.[1]	MET	METxRAC
pH (0 h)	6,98 ^{b}	6,35 ^{a}	6,87 ^{b}	6,34 ^{a}	0,0878	NS	NS
pH (0-12 h)	6,50 ^{b}	6,06 ^{a}	6,91 ^{b}	6,26 ^{a}	0,096	**	NS
Total AGV (mmol/l)[2]	132	137	83,0	87,3	5,78	***	NS
Acético (mol/mol)	65,5 ^{b}	57,7 ^{a}	57,0 ^{b}	53,7 ^{a}	0,82	***	NS
Propiónico (mol/mol)	17,2	20,6	16,7 ^{b}	12,3 ^{a}	1,28	***	**
Butírico (mol/mol)	13,5 ^{b}	17,1 ^{a}	16,2 ^{a}	24,9 ^{b}	0,56	***	NS
Acético/Propiónico	3,90 ^{b}	2,96 ^{a}	3,41 ^{a}	4,30 ^{b}	0,252	*	***
DMOR (%)[3]	48,3 ^{a}	55,8 ^{b}	61,5 ^{a}	69,6 ^{b}	0,97	***	NS
N microbiano (mg/d)	9.900 ^{a}	14.515 ^{b}	114 ^{a}	126 ^{b}	525,6	***	NS
ESM[4]	22,4 ^{a}	27,1 ^{b}	11,0 ^{a}	12,6 ^{b}	1,36	***	NS

$^{a, b}$ dentro de cada método, los valores con diferente superíndice difieren (P<0,05). * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001; NS: P>0,05

[1] error estándar de la diferencia

[2] valores medios en 24 horas (muestreo seriado cada 2 horas en la prueba *in vivo*)

[3] DMOR: digestibilidad aparente de la materia orgánica en el rumen. En la prueba *in vivo* la DMOR se calculó como el 65 % de la materia orgánica digerida en el total del tracto digestivo

[4] ESM: eficiencia de la síntesis microbiana (g N microbiano/ kg materia orgánica aparentemente fermentada en el rumen)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carro, M.D. , Valdés, C., Ranilla, M.J. and González, J.S. 2000. *Anim. Sci.*, 70: 127-134.

Czerkawski, J.W. and Breckenridge, G., 1977. *Br. J. Nutr.*, 38: 371-384.

Mansfield, H.R., Endres, M.I. and Stern, M.D. 1995. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 55: 47-66.

Russell, J.B. 1998. *J. Anim. Sci.*, 81: 3222-3230.