EFECTO DE LA DEFAUNACIÓN RUMINAL SOBRE LOS PARÁMETROS DE FERMENTACIÓN IN VITRO

R. García González [1], C. J. Newbold [2] y S. López [1]
[1] *Dpto. Producción Animal I, Universidad de León. 24071, León*
[2] *Rowett Research Institute. Bucksburn, Aberdeen. AB21 9SB (Reino Unido)*

INTRODUCCIÓN

Una parte de las bacterias metanogénicas del rumen se encuentran asociadas a los protozoos ciliados. El porcentaje del metano generado en el rumen que es producido por estas bacterias metanogénicas ligadas a los protozoos se sitúa entre un 25 y un 50%. La formación de metano es una ruta de captura del hidrógeno generado en la fermentación anaerobia del sustrato. Con dietas ricas en concentrado, los protozoos generan gran parte del hidrógeno que se libera en el rumen, y que queda a disposición de las bacterias asociadas para la formación de metano (Ushida y col, 1997). Se ha sugerido que la defaunación del rumen supondría una pérdida de hábitat para una parte importante de las bacterias metanogénicas y, de esta forma, podría ser considerada como una de las posibilidades para disminuir las emisiones de metano. Existe un interés creciente por disminuir las emisiones de este gas, ya que se lograrían importantes beneficios económicos, productivos y medioambientales.

Este estudio consta de dos pruebas experimentales de fermentación ruminal in vitro. En la primera (prueba A) el objetivo fue la comparación entre inóculos procedentes de ovejas defaunadas y no defaunadas (control) en los parámetros de fermentación. En la segunda (prueba B) se estudió el efecto de la centrifugación del líquido ruminal, como medio para eliminar los protozoos, sobre la fermentación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Prueba A: Se dispuso de seis ovejas canuladas en el rumen para obtener el líquido ruminal utilizado como inóculo. Tres de estas ovejas se mantenían defaunadas (la ausencia de protozoos en su contenido ruminal se comprobó al microscopio). Las otras tres ovejas eran mantenidas en condiciones normales (ovejas control). En ambos casos la dieta que consumían, administrada una vez al día, estaba compuesta por una mezcla de heno, cebada grano, soja, melaza y corrector vitamínico-mineral, en proporciones 50:30:10:9:1. La recogida de líquido ruminal se realizó antes de la administración de la comida, filtrándolo a través de dos capas de gasa.

Las fermentaciones se llevaron a cabo en viales de vidrio de 120 ml de capacidad. En cada vial se añadieron 200 mg de un sustrato compuesto por 800 g/kg de un alimento concentrado (mezcla de maíz, cebada y soja) y 200 g/kg de un heno de alfalfa. El líquido ruminal filtrado fue mezclado con el medio de cultivo descrito por Menke y Steingass (1988) en una proporción de 1:2, dosificando en cada vial 30 ml de líquido ruminal diluido. Los viales se cerraron con tapones de goma y cápsulas de aluminio. En todo caso se trabajó bajo condiciones de anaerobiosis gaseando los recipientes utilizados con CO_2.

Una vez sellados, los viales se introdujeron en un baño de agua a 39º C, donde se incubaron durante 24 h con agitación continua. Transcurrido este tiempo se midió el volumen de gases de fermentación acumulados en el espacio de cabeza del vial, utilizando una jeringa graduada de vidrio de 100 ml.

A continuación, se tomó una muestra de 1 ml de estos gases, para analizar su composición en un cromatógrafo de gases. Finalmente, se abrió el vial para tomar una muestra del líquido, medir el pH y determinar la concentración de los ácidos grasos volátiles (AGV) por cromatografía de gases.

La prueba se repitió en dos días diferentes, utilizando tres viales para cada oveja y en cada tanda de incubación.

Prueba B: Se utilizó sólo líquido ruminal obtenido de las tres ovejas normales. Parte de este líquido se centrifugó a 1000 x g durante 10 minutos para obtener el sobrenadante libre de protozoos. Así se obtuvo inóculo de cada oveja: de líquido ruminal normal y de líquido ruminal libre de protozoos. La prueba se repitió tres días diferentes, utilizando en cada caso duplicados por cada oveja y tratamiento. Los demás aspectos metodológicos coinciden con los de la prueba A.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la Prueba A se recogen en la Tabla 1.

Tabla 1.- *Parámetros de fermentación ruminal in vitro utilizando como inóculo líquido ruminal de ovejas control o defaunadas.*

PRUEBA A	*Ovejas control*	*Ovejas defaunadas*	*EED*
Producción de gas, ml/d	48,7	53,4	1,86*
CH_4, % en gases	7,51	7,79	0,424
CH_4, µmoles/d	474	509	28,9
AGV, µmoles/d	1261	1395	152,3
Acético, %	66	63	1,9
Propiónico, %	20	19	1,8
Butírico, %	14	10	0,1*
Acético/Propiónico	3,25	3,71	0,520

EED = Error Estándar de la Diferencia.
* Diferencia entre medias estadísticamente significativa (P<0,05)

Puede observarse que no hubo diferencias estadísticamente significativas (P>0,05) entre los inóculos obtenidos de ovejas defaunadas y los de ovejas normales en cuanto a la concentración de metano en el gas de fermentación y a la producción de metano y AGV. Sólo se aprecian diferencias significativas (P<0,05) en la producción total de gas y en la proporción de butírico dentro de los AGV.

Esto concuerda con lo que han observado otros autores, que han realizado diversos experimentos en los que se han obtenido resultados variables del efecto de la defaunación de los animales sobre la producción de metano (Hegarty, 1999). Cabe pensar que si bien en principio la eliminación de los protozoos conlleva la desaparición de un hábitat preferido por algunas bacterias metanogénicas, a largo plazo puede producirse una adaptación de estas bacterias para poder prescindir de este hábitat. Esto puede además expiicar los resultados variables recogidos en la bibliografía, que podrían ser función del tiempo transcurrido entre la defaunación del rumen y la recolección del líquido ruminal.

En la Tabla 2 se muestran los resultados de la Prueba B.

Tabla 2.- *Efecto de la eliminación de protozoos en el líquido ruminal mediante centrifugación sobre los parámetros de fermentación in vitro.*

PRUEBA B	*Control*	*Líq. centrifugado*	*EED*
Producción de gas, ml/d	48,0	38,0	1,01*
CH_4, % en gases	6,53	3,65	0,373*
CH_4, µmoles/d	408	213	23,5*
AGV, µmoles/d	1209	967	32,4*
Acético, %	61	54	1,5*
Propiónico, %	23	36	1,9*
Butírico, %	12	9	1,4*
Acético/Propiónico	2,72	1,52	0,135*

EED = Error Estándar de la Diferencia.
* Diferencia entre medias estadísticamente significativa (P<0,05)

La centrifugación del líquido ruminal dio lugar a una menor producción de gas, metano y AGV tras 24 h de fermentación in vitro. La concentración de metano en el gas de fermentación y las proporciones molares de acético y butírico también fueron menores cuando se centrifugó el líquido de rumen, mientras que la proporción molar de propiónico fue mayor con el líquido centrifugado. La formación de acético conlleva la liberación de hidrógeno (Moss y col., 2000), cuya eliminación del medio está disminuida al faltar bacterias metanogénicas. En cambio, la formación de propiónico es una vía de captura de este hidrógeno, con lo que su formación se favorece cuando faltan otras rutas, como la metanogénesis (Moss y col., 2000).

Se aprecia además una disminución en la actividad fermentativa ya que, además de faltar la actividad de los protozoos, la centrifugación podría suponer la eliminación del medio de algunas de las bacterias de mayor tamaño. Cabe esperar una falta de adaptación de la población microbiana usada como inóculo ya que, cualitativamente, es una parte de la que se usó como control.

No obstante, al centrifugar el inóculo la reducción en la producción de metano (–48%) fue, comparativamente y en términos relativos, mayor que la observada en otros parámetros de fermentación (–21% de gas y –20% de AGV), lo que parece confirmar la importante contribución de las bacterias metanogénicas ligadas a los protozoos a la cantidad total de metano producida durante la fermentación. En cualquier caso, los resultados de la prueba A sugieren que con la defaunación, a largo plazo, no se logra una disminución significativa de las emisiones de este gas por los rumiantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Hegarty R. S. 1999. Reducing rumen methane emissions through elimination of rumen protozoa. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50: 1321-1327.

Menke K. H. y Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28: 7-55.

Moss A. R., Jouany J. P. y Newbold C. J. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de Zootechnie*, 49: 231-253.

Ushida K., Tokura M., Takenaka A. e Itabashi H. 1997. Ciliate protozoa and ruminal methanogenesis. En "*Rumen Microbes and Digestive Physiology in Ruminants*" (Ed. R. Onodera y col.), pp.: 209-30. Japan Scientific Societies Press. Tokio.