EFECTO DE LA ADICIÓN DE ENZIMAS EXÓGENAS Y DEL pH SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL DE DIETAS MIXTAS EN UN SISTEMA DE CULTIVOS CONTINUOS

G. Hervás[1,2], D. Colombatto[1,3], D.D. Vedres[1], A.F. Furtado[1], W.Z. Yang[1] y K.A. Beauchemin[1]

[1] Agriculture and Agri-Food Canada, Lethbridge, AB T1J 4B1 (Canadá)
[2] Estación Agrícola Experimental (CSIC) Apdo. 788 - 24080 León (España)
[3] Departamento de Producción Animal, FAUBA. Buenos Aires (Argentina)

INTRODUCCIÓN

El empleo de enzimas en la nutrición de los rumiantes no está aún extendido comercialmente, lo cual posiblemente responda a que apenas existe información concluyente sobre sus modos de acción y sobre las condiciones productivas en las que estos compuestos pueden ser efectivos.

Diversos trabajos científicos (Yang *et al.*, 1999, 2002; Beauchemin *et al.*, 2003) han señalado que la adición de mezclas enzimáticas a la dieta de los rumiantes puede incrementar la utilización digestiva de los alimentos (principalmente de los forrajes) pudiendo llegar a mejorar la eficiencia productiva de los animales. Sin embargo, este efecto puede variar dependiendo de múltiples factores, entre ellos el pH (Yang *et al.*, 2002), y por lo tanto, la utilización comercial de estos productos en la alimentación de los rumiantes requiere su caracterización previa.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la adición de una preparación enzimática exógena a una dieta mixta sobre la fermentación microbiana ruminal, en un sistema de cultivos continuos, mantenido a dos pH diferentes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 4 fermentadores contínuos de doble flujo (Hoover *et al.*, 1989) inoculados con líquido ruminal extraído de tres vacas lecheras canuladas en el rumen, 2 horas después de la administración de la comida de la mañana. Los tratamientos consistieron en dos pH ruminales (alto, A y bajo, B) y dos tratamientos de la dieta (control, C y con adición de un preparado enzimático, E). El experimento se realizó de acuerdo con un diseño de cuadrado latino con 4 períodos experimentales consecutivos de 9 días cada uno (6 de adaptación y 3 de medición).

El pH de la saliva se controló mediante la adición continua a los fermentadores de saliva artificial (McDougall, 1948) al 100% (pH alto, A) y al 60% (pH bajo, B).

Diariamente, se suministraron a cada fermentador 80 g MS de una dieta mixta, en dos proporciones iguales y a intervalos de 12 horas. Dicha dieta mixta contenía 30% de heno de alfalfa, 30% de silo de maíz fresco y 40% de maíz (%MS). La alfalfa se molió en un molino centrífugo a 4,5 mm, y el silo y los granos de maíz en un molino de cuchillas, durante 10 y 2 segundos, respectivamente. El silo de maíz se mantuvo a -40°C hasta el momento de ser utilizado.

Para el tratamiento E, 60 g (MF) de la dieta mixta se mezclaron con 0,5 mL de una solución que contenía 60 μL (1,5 L/Tn MS) de una preparación enzimática. Dicho preparado es un producto comercial (*Cargill Inc.*, St. Louis, MO, Estados Unidos) derivado de *Bacillus* sp., que al ser evaluado *in vitro* (Colombatto *et al.*, enviado) presentó principalmente actividad proteasa (4507 unidades/mL). También se detectaron, aunque en cantidades despreciables, actividades celulasa, hemicelulasa y α-amilasa. A la dieta control (C) se le añadió igual cantidad de agua

destilada. El tiempo de interacción de la enzima con la dieta mixta fue de entre 12 y 24 horas (a 4ºC).

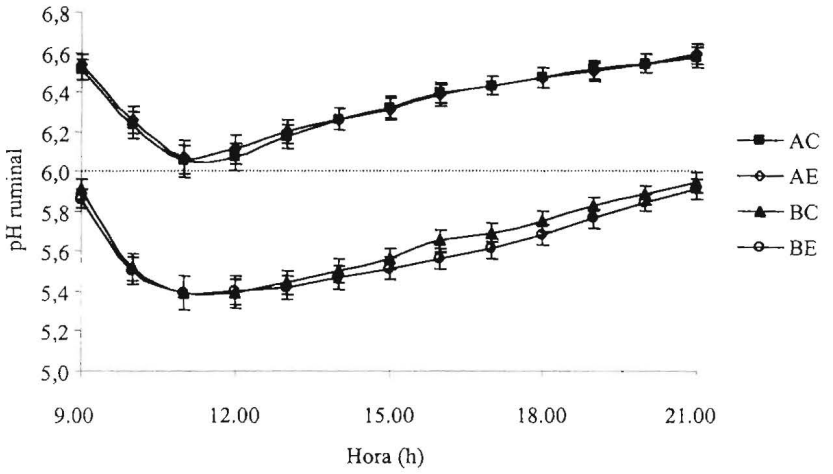
La temperatura de fermentación (39ºC), el mezclado (160 rpm), las condiciones de anaerobiosis (15 mL CO_2/min) y las tasas de dilución de los sólidos (4,5%/h) y de los líquidos (10%/h) en los fermentadores se mantuvieron constantes a lo largo de todo el experimento. Durante los 3 días de muestreo, de los efluentes (mantenidos a 4ºC) se tomaron muestras de 750 mL para su posterior análisis de laboratorio (MS, MO, PB, FND, FAD y almidón).

Los datos obtenidos se analizaron utilizando el procedimiento MIXED del SAS (1999) y la comparación de medias se realizó mediante LSMEANS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante la manipulación de la concentración de saliva artificial en los fermentadores se obtuvieron dos evoluciones de pH ruminal totalmente distintas (Figura 1). Sin embargo, la adición del preparado enzimático a la dieta mixta no afectó de manera significativa (P>0,10) a la evolución diurna del pH ruminal.

Figura 1.- Efecto del pH (A y B) y de la adición o no del preparado enzimático (C y E) a la dieta mixta sobre las fluctuaciones diurnas del pH ruminal, tras la administración de la comida de la mañana.



El efecto de la manipulación del pH y de la adición de enzimas exógenas a la dieta mixta no tuvo ningún efecto significativo (P>0,10) sobre la degradación de la MS, de la MO, ni del almidón (ver Tabla 1), a pesar de que otros autores han observado que a bajo pH la degradación aparente de la MS se ve reducida como consecuencia de una disminución de la actividad fibrolítica (Calsamiglia *et al.*, 2002). La menor degradación de la FND, de la FAD y, sobre todo, de la celulosa (Tabla 1; P<0,001) observada a bajo pH (B) estaría relacionada con la reducción encontrada en la población de bacterias celulolíticas (Colombatto *et al.*, 2003).

Por el contrario, la adición de la enzima a la dieta aumentó significativamente (P<0,01) la degradación de la FND, lo cual coincide con los resultados de Yang *et al.* (1999; 2002). Este aumento es debido, fundamentalmente, a una mayor degradación de la hemicelulosa (HCel), como puede comprobarse en la Tabla 1. La adición de la

preparación enzimática a la dieta mixta dio lugar a incrementos en la degradación de la HCel de un 55 y un 68% en los pH A y B, respectivamente.

En el caso de la PB (Tabla 1), la adición del preparado enzimático a la dieta mixta tendió a aumentar su degradación aparente (P<0,10), posiblemente como consecuencia de que dicho preparado poseía principalmente actividad proteolítica.

Tabla 1.- Efecto del pH (A y B) y de la adición o no del preparado enzimático (C y E) a la dieta mixta sobre la degradación ruminal (%) de MS, MO, PB, FND, FAD, LAD, hemicelulosa (HCel), celulosa (Cel) y almidón (Alm).

	Tratamiento					Nivel de significación		
	AC	**AE**	**BC**	**BE**	eem	pH	Enzima	pH × Enzima
MS	55	58	55	59	1,8	NS	NS	NS
MO	56	59	55	56	1,8	NS	NS	NS
PB	15	17	16	22	3,8	NS	†	NS
FND	24	34	17	21	4,1	***	**	NS
FAD	28	35	15	14	5,2	***	NS	NS
LAD	18	24	19	21	5,8	NS	NS	NS
HCel	18	33	19	28	3,4	NS	***	NS
Cel	31	37	14	13	5,2	***	NS	NS
Alm	92	93	93	94	13,9	NS	NS	NS

eem, error estándar de la media.
NS = no significativo (P>0,10); † = P<0,10; ** = P<0,01; *** = P<0,001.

En conclusión, podría decirse que la adición del preparado enzimático aquí estudiado a una dieta mixta puede mejorar la degradación de la fibra (especialmente de la hemicelulosa), debido probablemente a que dicha preparación enzimática actúe sobre las barreras estructurales de los alimentos (proteínas estructurales de la pared celular), mejorando así la accesibilidad de los microorganismos ruminales. Este efecto se observa incluso cuando las condiciones de pH no son las óptimas.

AGRADECIMIENTOS

Para la realización de este trabajo, Gonzalo Hervás disfrutó de una ayuda para estancias breves en el extranjero del Plan Nacional de Formación de Personal Investigador del Ministerio de Ciencia y Tecnología (MCyT).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Beauchemin, K.A.; Colombatto, D.; Morgavi, D.P. & Yang, W.Z. 2003. *J. Anim. Sci.* (en prensa).

Calsamiglia, S.; Ferret, A. & Devant, M. 2002. *J. Dairy Sci.* 85, 574-579.

Colombatto, D., Hervás, G. & Beauchemin, K.A. 2003. In: *Conference on Gastrointestinal Function*, Chicago, Illinois (Estados Unidos), p. 17.

Colombatto, D.; Morgavi, D.P.; Furtado, A.F. & Beauchemin, K.A. *J. Anim. Sci.* (enviado).

Hoover, W.H., Miller, T.K., Stokes, S.R. & Thayne, W.V. 1989. *J. Dairy Sci.* 72, 2991-2998.

McDougall, E.I. 1948. *Biochem. J.* 43, 99-109.

SAS. 1999. User´s Guide Int. (v. 8). SAS Inst. Inc., Cary, NC, Estados Unidos.

Yang, W.Z., Beauchemin, K.A. & Rode, L.M. 1999. *J. Dairy Sci.* 82, 391-403.

Yang, W.Z., Beauchemin, K.A. & Vedres, D.D. 2002. *Anim. Feed Sci. Technol.* 102, 137-150.