ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 744-746

FERMENTACIÓN *IN VITRO* DE RACIONES CON DIFERENTES PROPORCIONES DE FORRAJE Y CONCENTRADO: EFECTO DE LA ADICIÓN DE MALATO DISÓDICO

R. García Martínez, M.J. Ranilla, M.L. Tejido y M.D. Carro
Dpto. de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 León

INTRODUCCIÓN

La propuesta del Comité de la Unión Europea de prohibir el uso de aditivos antibióticos promotores del crecimiento en la alimentación animal a partir de enero de 2006 ha intensificado la necesidad de desarrollar alternativas válidas a estas sustancias. En el caso de los animales rumiantes se han investigado varios ácidos orgánicos como posibles alternativas, aunque la mayoría de los estudios se han centrado en las sales del ácido málico. En diferentes estudios *in vitro* (Martin y Streeter, 1995; Carro *et al.*, 1999; Carro y Ranilla, 2003) se ha observado que estas sales provocan modificaciones en la fermentación ruminal similares a las producidas por los antibióticos ionóforos, y que se traducen, principalmente, en un aumento del pH ruminal y de la producción de propionato, y en una disminución de la producción de metano. Sin embargo, es posible que la magnitud de la respuesta obtenida dependa de las características de la ración que reciben los animales (Carro y Ranilla, 2003), por lo que este estudio se planteó para estudiar el efecto del malato disódico sobre la fermentación *in vitro* de tres raciones con diferentes proporciones de forraje y concentrado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las relaciones forraje:concentrado de las raciones utilizadas fueron: 80:20 (ración **C20**), 50:50 (ración **C50**) y 20:80 (ración **C80**). El forraje se compuso de heno de alfalfa y ensilado de maíz (mezcla 50:50 en materia seca (MS)) y el concentrado estuvo formado por maíz, cebada y soja en proporciones 35:50:15, respectivamente. En la Tabla 1 figura la composición química de las tres raciones. Muestras de cada ración (500 mg de MS) se incubaron en botellas de 120 ml de volumen, a las que se añadieron 50 ml de una mezcla 1:4 (v/v) de líquido ruminal y del medio de cultivo descrito por Goering y Van Soest (1970). Como inóculo se utilizó líquido ruminal procedente de 4 ovejas fistuladas en el rumen, que recibían heno de alfalfa *ad libitum* y 300 g de concentrado administrados en dos tomas diarias. El líquido ruminal se recogió por la tarde, inmediatamente antes de la administración del concentrado, y se filtró a través de cuatro capas de gasa y una capa de nailon de 100 µm de poro antes de ser mezclado con el medio de cultivo. Las raciones se incubaron sin ningún aditivo, y añadiéndoles la cantidad necesaria de malato disódico (Sigma Chemical Co., Madrid) para obtener una concentración 8 mM de malato. Una vez llenas, las botellas se cerraron herméticamente y se incubaron a 39ºC durante 16 horas. Tras finalizar la incubación, se midió la producción de gas y se recogió una muestra del mismo para analizar su concentración en metano. A continuación, se abrieron las botellas, se determinó el pH del medio, y se tomó una muestra para analizar su concentración en ácidos grasos volátiles

Este trabajo ha sido financiado por el MCYT (Proyecto AGL2001-0130) y la Junta de Castilla y León (Proyecto LE63/03). M.J. Ranilla disfruta de un contrato investigador del MCYT (Programa Ramón y Cajal).

(AGV). Finalmente, se filtró el contenido de las botellas en crisoles provistos de una placa porosa para determinar la desaparición de MS y de materia orgánica. Los análisis de AGV y de metano se realizaron mediante cromatografía de gases. En total se realizaron cuatro incubaciones en días diferentes, para obtener cuatro réplicas por tratamiento. Para cada ración, el efecto de la adición de malato disódico sobre los parámetros ruminales determinados se estudió mediante un análisis de varianza y se consideraron como efectos principales el tratamiento (control *vs* malato) y el día de incubación.

Tabla 1. Composición química (g/kg MS) de las raciones incubadas *in vitro*

Ración	Materia orgánica	Proteína bruta	Fibra neutro-detergente	Fibra ácido-detergente
C20	947	135	387	236
C50	956	145	297	164
C80	966	156	208	91,3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos figuran en la Tabla 2. La adición de malato disódico produjo un aumento ($P<0,05$) del pH final con las raciones **C50** y **C80**, pero con la ración **C20** este efecto no llegó a ser significativo ($P<0,10$). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por López *et al.* (1999) y Carro y Ranilla (2003) para raciones con altas proporciones de concentrados y granos de cereales, respectivamente. Con la ración **C20** la adición de malato disódico mostró una tendencia ($P<0,10$) a aumentar la DMO, pero no se observaron efectos con las otras dos raciones. La producción de metano disminuyó significativamente ($P<0,05$) en los cultivos *in vitro* a los que se les añadió malato con las raciones **C20** y **C80**, pero no se observó un efecto significativo con la ración **C50**. La reducción en la producción de metano fue inferior al 5 %, lo que concuerda con los resultados obtenidos por otros autores (López *et al.*, 1999; Carro y Ranilla, 2003).

La producción de AGV se vio afectada en todos los casos por la adición de malato, pero existieron diferencias entre las raciones. Con la ración **C20**, el tratamiento con malato aumentó ($P<0,05$) la producción de los tres principales AGV (acetato, propionato y butirato). López *et al.* (1999) obtuvieron resultados similares al añadir malato a cultivos in vitro con una ración compuesta por un 80 % de heno de alfalfa y un 20 % de concentrado.

La adición de malato a los cultivos que recibieron la ración **C50** produjo un aumento ($P<0,05$) en la producción de acetato y propionato, pero no afectó ($P>0,05$) a la cantidad de butirato producida. De forma similar, Carro *et al.* (1999) observaron un aumento de la producción de acetato y propionato cuando se añadió malato a fermentadores semicontinuos que recibían una ración basal con una relación forraje:concentrado 50:50, sin que se observara en este caso una modificación en la producción de butirato.

En línea con los resultados observados por Carro y Ranilla (2003) en incubaciones *in vitro* de granos de cereales con líquido ruminal, la adición de malato a la ración **C80** en este experimento aumentó la producción de propionato y butirato ($P<0,05$), sin que se viera afectada ($P>0,05$) la producción de acetato.

Los resultados de este estudio, junto con los obtenidos previamente por otros autores, parecen confirmar que la respuesta a la adición de malato a cultivos *in vitro* de microorganismos ruminales depende del tipo de ración basal incubada.

Tabla 2. Efecto de la adición de malato disódico (8mM) sobre el pH final, la producción de metano (mmol), la desaparición de materia orgánica (DMO; %) y la producción de acetato, propionato y butirato (µmol) tras la incubación *in vitro* (16 h) con líquido ruminal de tres raciones con diferentes proporciones de forraje y concentrado

		Control	Malato	e.e.d.	Significación estadística (P=)
Ración **C20**	pH	6,34	6,41	0,055	NS†
	Metano	701	666	10,9	0,032
	DMO	48,2	50,6	0,90	NS†
	Acetato	1841	2059	70,7	0,049
	Propionato	668	890	35,9	0,008
	Butirato	447	495	8,3	0,011
Ración **C50**	pH	6,31	6,37	0,031	0,049
	Metano	754	742	9,7	NS
	DMO	56,2	58,4	1,03	NS
	Acetato	1836	2059	69,6	0,049
	Propionato	697	894	33,6	0,010
	Butirato	537	543	14,3	NS
Ración **C80**	pH	6,27	6.36	0,028	0,049
	Metano	812	773	10,8	0,038
	DMO	67,0	67,0	0,92	NS
	Acetato	1937	1870	72,7	NS
	Propionato	731	908	56,2	0,049
	Butirato	570	644	18,2	0,027

e.e.d.: error estándar de la diferencia; NS: P>0,05; NS†: P<0,10.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carro MD, López S, Valdés C y Ovejero FJ. 1999. Effect of DL-malate on mixed ruminal microorganism fermentation using the rumen simulation technique (RUSITEC). *Anim. Feed Sci. Technol.* 79: 279-288.

Carro MD y Ranilla MJ. 2003. Effect of the addition of malate on *in vitro* rumen fermentation of cereal grains. *Br. J. Nutr.* 89: 279-288.

Goering MK y Van Soest PJ. 1970. *Agric. Handb. n 379. Agric. Res. Serv.*, USDA. Washington DC.

López S, Newbold CJ, Tejido ML, Bochi O y Wallace RJ. 1999. Modificación de la fermentación ruminal in vitro por precursores metabólicos de los ácidos grasos volátiles. *ITEA*, Vol. Extra 20, Nº2: 517-519.

Martin SA y Streeter MN. 1995 Effect of malate on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. *J. Anim. Sci.* 73: 2141-2145.