EFECTO DE LA PROPORCIÓN DE CONCENTRADO EN LA RACIÓN SOBRE LA FERMENTACIÓN *IN VITRO* Y LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA MICROBIANA*

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

INTRODUCCIÓN

La relación forraje:concentrado de la ración es uno de los factores que afectan a la síntesis de proteína microbiana y a su eficiencia. Los resultados obtenidos *in vivo* muestran que, en general, el crecimiento microbiano y la eficiencia de la síntesis microbiana (ESM) aumentan a medida que aumenta la proporción de concentrado en la ración hasta un determinado punto a partir del cual disminuye (Archimède et al., 1997), pero la proporción idónea de cada componente para maximizar la síntesis de proteína microbiana aún no ha sido determinada. Por otra parte, y a pesar del auge de las técnicas *in vitro* para estudiar la fermentación ruminal y los factores que la afectan, no existe suficiente información sobre la síntesis de proteína microbiana en esos sistemas. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de la proporción de concentrado en la ración sobre la fermentación ruminal *in vitro* y la síntesis de proteína microbiana.

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 pesaron 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 400 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. Una vez llenas, las botellas (diez por ración e incubación) se cerraron herméticamente y se incubaron a 39ºC durante 17 horas. Tras finalizar la incubación, se midió la producción de gas en dos botellas y de una de ellas se recogió una muestra del mismo para analizar su concentración en metano. A continuación, estas dos botellas se abrieron, se determinó el pH del medio, y se tomó una muestra para analizar su concentración en ácidos grasos volátiles (AGV) y amoníaco. Las botellas restantes se abrieron y se mezclaron para estimar el crecimiento microbiano total y en la fase sólida de la digesta. Como muestras de referencia se aislaron bacterias totales y bacterias asociadas a la fase sólida de la digesta (BAS), y se calculó el crecimiento microbiano utilizando como marcador ^{15}N. 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. Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza y se consideraron

* Este trabajo forma parte del proyecto de investigación AGL-2004-04755-CO2-01/GAN financiado por el M.E.C.

como efectos principales la ración y el día de incubación. El efecto lineal de la ración se estudió mediante contrastes ortogonales. Cuando se detectó un efecto significativo (P<0,05), los valores medios se compararon mediante el test LSD.

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. Como cabía esperar, el pH final disminuyó linealmente (P<0,001) a medida que aumentó la proporción de concentrado de la ración. En línea con estos resultados, la producción total de AGV aumentó linealmente (P<0,01) al aumentar la proporción de concentrado de la ración. En lo que se refiere a los AGV individuales, la producción de acetato no se vió afectada (P>0,05) por el tipo de ración incubada, pero las de propionato y butirato aumentaron linealmente al aumentar la cantidad de concentrado. Como consecuencia del aumento de la producción de propionato asociada a la inclusión de

Tabla 2. Efecto de la relación forraje:concentrado de la ración sobre los principales parámetros de fermentación y la síntesis de proteína microbiana *in vitro*

	C20	**C50**	**C80**	e.e.d.[1]	L[2]
pH	6,34^{c}	6,32^{b}	6,26^{a}	0,013	***
AGV (µmol)					
Acetato	1902	1917	1902	29,4	NS
Propionato	699^{a}	744^{ab}	758^{b}	21,3	*
Butirato	456^{a}	515^{b}	575^{b}	18,3	***
Otros	125	127	119	5,5	NS
Total AGV	3182^{a}	3334^{b}	3377^{b}	61,0	**
Acetato:propionato	2,75^{b}	2,64^{ab}	2,58^{a}	0,064	*
CH_4 (µmol)	700^{a}	754^{ab}	811^{b}	35,5	*
CH_4/AGV (µmol:µmol)	0,221	0,226	0,242	0,0163	NS
N amoniacal (µmol)	15,3	14,8	15,3	0,53	NS
N microbiano (mg)	15,4^{b}	16,6^{ab}	17,7^{a}	0,66	*
% BAS	32,0^{a}	22,3^{b}	15,9^{c}	1,23	***
ESM[3]	54,2	55,0	57,2	2,84	NS

$^{a, b, c}$: para cada parámetro, los valores con diferente superíndice difieren (P<0,05)

[1]. e.e.d.: error estándar de la diferencia

[2] Efecto Lineal: NS: P>0,05; *: P<0,05; **P<0,01; ***: P<0,001

[3] ESM: eficiencia de la síntesis de proteína microbiana (g N microbiano/kg MO aparentemente fermentada en el rumen, estimada a partir de la producción de AGV según la fórmula propuesta por Demeyer (1991).

cantidades crecientes de concentrado en la ración, la relación acetato:propionato disminuyó (P<0,05) de forma lineal.

La producción de metano aumentó significativamente (P<0,05) al incrementar la proporción de concentrado. En experimentos *in vivo* se ha comprobado que la inclusión de concentrado en la ración de los rumiantes disminuye la producción de metano a la vez que aumenta la de propionato. Sin embargo, este efecto es dependiente del pH (Lana et al., 1998), y es posible que en las condiciones en que se realizan las pruebas de cultivos seriados los valores de pH no disminuyan lo suficiente como para detectar una inhibición de la metanogénesis. En este estudio no se encontraron diferencias entre raciones (P>0,05) en la relación molar metano:AGV.

El crecimiento microbiano aumentó linealmente (P<0,05) al aumentar la proporción de concentrado de la ración incubada. Sin embargo, el tipo de ración no afectó a la ESM, que fue similar para las tres raciones, con un valor medio de 55 g de N microbiano/kg MO digestible. Estos valores concuerdan con los que aparecen en la bibliografía y que oscilan en un amplio rango, aunque la mayoría está entre 14 y 50 g N microbiano/kg de MO digestible (Archimède et al., 1997). Si bien se ha sugerido que la máxima eficiencia de síntesis microbiana en el rumen se obtiene con proporciones de concentrado en la ración de entre el 30 y el 40% (Archiméde et al., 1991), es posible que no sea tan importante la relación entre forraje y concentrado como la complementariedad en los ritmos de fermentación de los hidratos de carbono que los componen.

La proporción de BAS disminuyó linealmente (P<0,001) al aumentar la proporción de concentrado en la ración, oscilando entre el 32% para la ración **C20** y el 15,9% para la **C80**. Este hecho se debe a que una mayor proporción de forraje en la ración favorece el crecimiento de las BAS, ya que existe un mayor número de bacterias celulolíticas unidas a las partículas de forraje (Yang et al., 2001). Sin embargo, los valores son marcadamente inferiores a los encontrados *in vivo*, lo que podría atribuirse a las diferentes condiciones experimentales. El contenido en materia seca del rumen varía con diversos factores, oscilando entre el 10 y el 25% (Czerkawski, 1986), mientras que en este experimento representó, al final de la incubación, sólo entre el 1,5 y el 2% del volumen total.

Los resultados obtenidos indican que la inclusión de cantidades crecientes de concentrado en la ración estudiada (hasta el 80%) estimuló la síntesis de proteína microbiana *in vitro*, sin afectar negativamente a su eficiencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Archimède H, Sauvant D and Schmidely P. 1997. Quantitative review of ruminal and total tract digestion of mixed diet organic matter and carbohydrates. *Rep. Nut. Dev*. 37: 173-189.

Czerkawski JW. 1986. An Introduction to Rumen Studies, Oxford: Pergamon Press.

Demeyer DI. 1991. Quantitative aspects of microbial metabolism in the rumen and hindgut. In *Rumen microbial metabolism and ruminant digestion* (ed. J.P. Jouany), pp. 217-237. INRA Editions, Paris.

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

Lana RP, Russell JB and Van Amburgh ME. 1998. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. J. *Anim. Sci*. 76: 2190-2196.

Yang, W. Z., K. A. Beauchemin, and L. M. Rode. 2001. Effect of dietary factors on distribution and chemical composition of liquid- or solid-associated bacterial populations in the rumen of dairy cows. *J. Anim. Sci*. 79:2736–2746.