DEGRADACIÓN RUMINAL DE UN SUBSTRATO CON UN ALTO CONTENIDO EN FORRAJE EN FERMENTADORES DE FLUJO SEMICONTINUO: EFECTO DEL TRATAMIENTO CON ENZIMAS FIBROLÍTICAS*

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

INTRODUCCIÓN

La utilización de enzimas fibrolíticas como aditivos en la alimentación de los animales rumiantes ha sido propuesta como una posible opción para mejorar el valor nutritivo de los alimentos que reciben estos animales. Sin embargo, dado el gran número de factores que afectan a la efectividad de estos aditivos, los resultados obtenidos han sido variables. En este trabajo nos planteamos analizar el efecto de tres preparaciones enzimáticas sobre la fermentación ruminal de un substrato con un alto contenido en forraje en fermentadores de flujo semicontinuo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando un rumen artificial de tipo semicontinuo (RUSITEC) provisto de ocho fermentadores. El substrato estuvo compuesto por una mezcla 70:30 de un heno de gramíneas y un concentrado de uso comercial, la cual contenía 470 g de fibra neutro-detergente (FND) y 141 g de proteína bruta por kg de materia seca (MS). Los tratamientos experimentales fueron: substrato sin tratar (control; **CON**), tratamiento con una celulasa producida por *Aspergillus niger* (**ASP**), tratamiento con una celulasa producida por *Trichoderma longibrachiatum* (**TRICH**) y tratamiento con una mezcla 50:50 de las dos enzimas anteriores (**MEZ**). Las tres preparaciones enzimáticas se seleccionaron a partir de los resultados obtenidos en estudios previos. Todas las enzimas son comercializadas por Fluka (Madrid, España) y se aplicaron a una dosis de 30 UI por gramo de MS de substrato. En todos los casos, las enzimas se disolvieron en una solución amortiguadora de fosfato sódico 1 mM (ph 6,5) y la disolución se pulverizó sobre el substrato (1 ml de disolución por 1 g de MS de substrato) utilizando un pulverizador manual. La aplicación de las enzimas se realizó 24 h antes de que el substrato fuera administrado a los fermentadores y durante este tiempo el substrato se mantuvo en el laboratorio a temperatura ambiente (20-22ºC). En el caso del tratamiento **CON**, el substrato fue tratado la solución amortiguadora de fosfato sódico.

Se realizaron dos series de incubación de 14 días de duración y en cada una de ellas se asignó cada tratamiento a dos vasijas, de forma que se obtuvieron un total de cuatro réplicas por tratamiento. El día 1 de cada serie se inoculó el sistema con contenido ruminal (líquido y sólido) procedente de cuatro ovejas fistuladas en el rumen alimentadas con heno de buena calidad *ad libitum* y 300 g de concentrado al día. Cada fermentador recibió diariamente 20 g de materia seca (MS) de substrato, el cual se administró dentro de bolsas de nylon a las 10:00 horas y se mantuvo dentro del fermentador durante 48 horas. Durante los días 10, 11 y 12 se determinaron los siguientes parámetros: pH, desaparición del substrato (MS y FND) tras 48 horas de incubación y producción de ácidos grasos volátiles (AGV). Durante

* Este trabajo ha sido financiado por el MCYT (Proyecto AGL2001-0130) y la Excma. Diputación Provincial de León.

los días 13 y 14 los 20 g de MS de substrato se introdujeron repartidos en tres bolsas: una bolsa que contenía 10 g y dos bolsas que contenían 5 g cada una de ellas. Las bolsas que contenían 5 g fueron extraídas de los fermentadores a las 6 y 24 horas de incubación, mientras que la bolsa que contenía 10 g de MS se extrajo a las 48 horas de incubación. Las bolsas se lavaron en una lavadora automática (programa en frío, 20 minutos) y se secaron en una estufa de aire forzado a 60ºC durante 48 horas para determinar la desaparición de MS (DMS). Posteriormente, se analizó el contenido en FND del residuo de incubación para determinar la desaparición de FND (DFND). Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de la varianza utilizando un modelo split-plot en el que se incluyeron los siguientes efectos: tratamiento enzimático, serie de incubación, día de muestreo y unidad experimental (fermentador). El efecto debido al tratamiento enzimático se contrastó con la varianza residual entre fermentadores y las diferencias entre tratamientos se analizaron mediante el test de la mínima diferencia significativa (LSD).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como puede observarse en la Tabla 1, ninguno de los tratamientos enzimáticos provocó cambios (P>0,05) en el pH del contenido de los fermentadores determinado inmediatamente antes de la administración del substrato. El tratamiento del substrato con las enzimas **TRICH** y **MEZ** produjo un aumento (P<0,05) de la producción de ácido butírico y otros AGV (calculados como la suma de los ácidos isobutírico, isovalérico y valérico), pero el tratamiento con la celulasa procedente de *A. Níger* no afectó (P>0,05) a la producción de estos AGV. Los tratamientos **TRICH** y **MEZ** provocaron un aumento de la producción diaria de AGV, sin que se detectaran diferencias (P>0,05) para el tratamiento **ASP** (61,5, 60,3, 53,7 y 56,6 mmol/d para los tratamientos **TRICH**, **MEZ**, **CON** y **ASP**, respectivamente). Asimismo, los tratamientos **TRICH** y **MEZ** tendieron (P<0,10) a aumentar la producción diaria de ácido propiónico y la relación acético/propiónico. Estos resultados podrían indicar que los tratamientos **TRICH** y **MEZ** produjeron un aumento de la degradación del substrato, ya que los AGV son productos finales de la fermentación del mismo. De hecho, los tres tratamientos enzimáticos produjeron un aumento (P<0,05) de la desaparición de MS a las 6 y 24 horas de incubación y la DMS-6h fue mayor (P<0,05) para los tratamientos **TRICH** y **MEZ** (46,3 y 47,6%, respectivamente) que para el tratamiento **ASP** (43,0%). Sin embargo, las diferencias entre tratamientos desaparecieron al cabo de 48 horas de incubación en el rumen, ya que únicamente se observó una tendencia (P<0,10) del tratamiento **TRICH** a aumentar la DMS-48h. Las diferencias observadas entre tratamientos en la desaparición de la FND fueron similares a las señaladas para la MS. Los tres tratamientos enzimáticos produjeron un aumento (P<0,05) de la DFND a las 6 y 24 horas de incubación, pero a las 48 de incubación únicamente el tratamiento **TRICH** produjo un aumento (P<0,05) de la desaparición de FND (34,2 y 37,9% para los tratamientos **CON** y **TRICH**, respectivamente).

Los resultados obtenidos indicarían que el tratamiento de substratos con un alto contenido en forraje con celulasas puede ejercer un efecto positivo sobre la degradación de la fibra del mismo, especialmente durante las primeras fases de dicha degradación. Estos resultados están en línea con los obtenidos por Nsereko et al. (2000), quienes observaron que el tratamiento de una muestra de heno de alfalfa con diferentes enzimas fibrolíticas produjo un aumento de la degradación *in vitro* del heno tras 12 horas de incubación, pero las diferencias observadas desaparecieron cuando la incubación se prolongó hasta 48 horas. Las enzimas fibrolíticas pueden

provocar la hidrólisis de algunos enlaces de la pared celular y, como consecuencia, se liberan azúcares solubles que favorecen la colonización de la fibra por los microorganismos ruminales (Nsereko et al. 2000). Asimismo, esta hidrólisis inicial de la pared celular puede facilitar la degradación microbiana. De hecho, en trabajos trabajos previos (Giraldo et al. 2004) se observó que el tratamiento de diferentes forrajes con enzimas fibrolíticas (celulasas y xilanasas) durante 24 horas producía una disminución de su contenido en FND.

Tabla 1. Efecto de diferentes tratamientos enzimáticos sobre el pH, la producción de ácidos grasos volátiles (mmol/d) y la desaparición de la materia seca (DMS; %) y de la fibra neutro detergente (DFND; %) de un substrato compuesto por forraje y concentrado (70:30) tras su incubación durante 6, 24 y 48 horas en fermentadores de flujo semicontinuo (Rusitec).

	Tratamiento enzimático				
	CON	**ASP**	**TRICH**	**MEZ**	e.e.d.[1]
pH	6,38	6,38	6,40	6,38	0,067
AGV					
Acético	27,6	28,9	30,7	30,2	1,46
Propiónico	10,9	11,3	10,8	11,3	0,824
Butírico	8,86 [a]	9,46 [a]	11,2 [b]	11,2 [b]	0,60
Otros AGV [2]	6,42 [a]	6,82 [a]	8,10 [b]	8,28 [b]	0,331
Total AGV	53,7 [a]	56,6 [ab]	61,5 [b]	60,3 [b]	2,96
Acético/Propiónico	2,55	2,61	2,75	2,81	0,124
Desaparición de:					
DMS-6h	38,0 [a]	43,0 [b]	46,3 [c]	47,6 [c]	0,63
DMS-24h	51,4 [a]	56,1 [b]	56,3 [b]	57,9 [b]	0,93
DMS-48h	61,9	63,9	64,7	63,9	1,51
DFND-6h	7,65 [a]	14,2 [b]	20,3 [c]	20,4 [c]	1,26
DFND-24h	22,5 [a]	27,1 [b]	28,2 [bc]	29,9 [c]	1,22
DFND-48h	34,2 [a]	36,8 [ab]	37,9 [b]	36,9 [ab]	2,55

[1] error estándar de la diferencia.
[2] suma de los ácidos isobutírico, isovalérico y valérico.
[a, b, c] para cada parámetro, los valores con diferente superíndice difieren (P<0,05).

Los resultados de este trabajo indicarían que el tratamiento de substratos con un alto contenido en forraje con algunas celulasas puede facilitar la degradación inicial de los mismos en condiciones *in vitro* y aumentar la producción de AGV.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Giraldo LA, Ranilla MJ, Tejido ML and Carro MD. 2004. Effect of exogenous fibrolytic enzymes on *in vitro* rumen fermentation of tropical forages. *J. Anim. Feed Sci.* 13: 67-70.

Nsereko VL, Morgavi DP, Rode LM, Beauchemin KA and McAllister TA. 2000. Effects of fungal enzyme preparations on hydrolysis and subsequent degradation of alfalfa hay fiber by mixed rumen microorganisms in vitro. *Anim. Feed Sci. Technol.* 88: 153-170.