EFECTOS DE UN HIDROLIZADO DE LEVADURAS SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y EL CRECIMIENTO MICROBIANO EN FERMENTADORES RUSITEC

Díaz A.[1], Ranilla M.J.[1,2], Saro C.[1], Tejido M.L.[2], Mateos I.[1], García-Rodríguez J.[1], Carro M.D.[3]
[1]Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 León, España. [2]Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC), Finca Marzanas s/n, 24346 Grulleros, León, España.
[3]Departamento de Producción Agraria, ETSIAAB, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España. mariadolores.carro@upm.es

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han llevado a cabo un gran número de estudios relacionados con el uso de levaduras *S. cerevisiae* en la alimentación de animales rumiantes (Chaucheyras-Durand *et al.,* 2012), pero muchos de ellos han utilizado productos comerciales que tienen un elevado coste. A partir del residuo de la destilación alcohólica de la caña de azúcar se puede obtener un hidrolizado enzimático de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* que ha mostrado efectos probióticos en aves, con buenos resultados en indicadores fisiológicos, inmunológicos y productivos (Pérez, 2000), así como un efecto estimulador del crecimiento de los microorganismos ruminales en condiciones *in vitro* (Galindo Blanco et al., 2010). Sin embargo, no se conocen sus posibles efectos sobre la fermentación ruminal. Por ello, el objetivo de este trabajo fue analizar los efectos del hidrolizado de levaduras en la fermentación ruminal *in vitro* utilizando fermentadores de flujo semicontinuo (Rusitec).

MATERIAL Y METODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando cuatro fermentadores de flujo semicontinuo (RUSITEC). El substrato incubado estuvo compuesto por una mezcla, a partes iguales, de heno de alfalfa y un concentrado comercial. El sustrato contenía 942 g de materia orgánica, 150 g de proteína bruta, 357 g de fibra neutro detergente (FND) y 126 g de fibra ácido detergente (FAD) por kg de materia seca (MS). Los tratamientos experimentales fueron: substrato sin tratar (control) y tratamiento con hidrolizado de levaduras. La dosis de hidrolizado de levaduras fue de 5 ml diarios por fermentador y fue seleccionada a partir de un estudio previo (Díaz *et al*., 2011). Se realizaron dos incubaciones de 14 días de duración cada una usando un diseño cruzado. En cada período de incubación dos fermentadores se suplementaron con hidrolizado de levaduras y los otros dos no recibieron suplementación. El día 1 se inoculó el sistema con contenido ruminal (líquido y sólido) procedente de tres ovejas fistuladas en el rumen y alimentadas diariamente con la misma dieta que recibieron los fermentadores. Cada fermentador recibió diariamente 15 g de MS de heno de alfalfa y 15 g de concentrado, que se administraron dentro por separado en bolsas de nylon (100 µm de tamaño de poro) y se mantuvieron dentro del fermentador durante 48 y 24 h, respectivamente.

Durante los días 9, 10, 11 y 12 se determinaron los siguientes parámetros: pH, desaparición del substrato (MS y FND) y producción de ácidos grasos volátiles (AGV), amoníaco y metano. Se determinó la desaparición aparente de la dieta siguiendo los procedimientos descritos por Martínez *et al.* (2010). Además, se tomaron tres ml del contenido de cada fermentador para la determinación de las actividades amilasa y xilanasa según los procedimientos descritos por Giraldo *et al.* (2008). Durante los días 13 y 14 se determinó el crecimiento de los microorganismos asociados a la fase sólida y a la fase líquida, para lo que se utilizó ^{15}N como marcador microbiano, tal y como se describe por Martínez *et al.* (2010).

Los datos se analizaron como un modelo mixto con medidas repetidas usando el procedimiento MIXED del programa SAS. El modelo estadístico incluyó el tratamiento, el día de muestreo, el período de incubación, y la interacción tratamiento x día de muestreo como efectos fijos y el fermentador como efecto aleatorio. Los datos de crecimiento microbiano se analizaron independientemente para cada fase de la digesta, como un modelo mixto que incluyó el tratamiento, el período de incubación y la interacción entre ambos como efectos fijos, y el fermentador como efecto aleatorio. Los efectos se declararon significativos a valores de $P < 0,05$, y valores de P entre 0,05 y 0,10 se consideraron tendencias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los efectos del tratamiento con hidrolizado de levaduras sobre los parámetros fermentativos medidos. La adición del hidrolizado de levaduras a los fermentadores no afectó a la producción diaria de AGV (P=0,801), pero modificó el perfil de los AGV, ya que redujo significativamente la proporción molar de ácido acético, isovalérico y caproico y aumentó la proporción de propiónico, butírico, isobutírico y valérico. Como consecuencia de estos cambios, los fermentadores que recibían el hidrolizado de levaduras tuvieron una menor relación acético/propiónico que los fermentadores no suplementados. Los efectos de los hidrolizados enzimáticos sobre la fermentación ruminal obtenidos en diferentes estudios son muy variables, pero algunos autores han descrito resultados similares a los nuestros en el perfil de AGV (Meissner *et al*.; 2014; Kettunen *et al.,* 2016). Sin embargo, los resultados dependen de numerosos factores, pero especialmente de las características del hidrolizado y del tipo de dieta incubada (Chaucheyras-Durand *et al.,* 2012; Carro et al., 1992).

Tabla 1. *Efectos de la suplementación con un hidrolizado de levaduras en los parámetros fermentativos, degradabilidad del sustrato y crecimiento microbiano en fermentadores Rusitec que recibían heno de alfalfa y concentrado en relación 1:1 (n = 4)*

Ítem	Tratamiento		eed[1]	*P* valor
	Control	Hidrolizado de levaduras		
Total AGV (mmol/d)	105	106	3,3	0,80
Proporción molar (mol/100 mol):				
Acético	54,5	51,1	0,48	0,001
Propiónico	14,9	17,7	0,28	0,001
Butírico	17,2	18,6	0,30	0,001
Isobutirico	1,22	1,35	0,04	0,002
Isovalérico	4,30	3,56	0,19	0,001
Valérico	4,85	5,31	0,15	0,003
Caproico	3,06	2,35	0,14	0,001
Acético:Propiónico (mol/mol)	3,67	2,89	0,09	0,001
Amoníaco (mg/L)	339	405	12,3	0,001
Metano (mmol/d)	29,5	28,3	0,75	0,07
Metano/Total AGV (mol/mol)	0,281	0,267	0,009	0,06
Actividad enzimática				
Amilasa	0,269	0,270	0,03	0,97
Xilanasa	0,627	0,641	0,04	0,62
Degradabilidad (g/g)				
Materia Seca	0,629	0,641	0,01	0,16
Fibra neutro detergente	0,468	0,474	0,014	0,64
Fibra ácido detergente	0,282	0,293	0,02	0,56
Crecimiento microbiano (mg N/d)				
Fase sólida	128	129	7,1	0,90
Fase líquida	110	129	3,6	0,07
Total	237	258	6,8	0,17

[1]error estándar de la diferencia.

Los fermentadores que recibieron el hidrolizado de levaduras presentaron una mayor (P<0,001) concentración de amoníaco y tendieron (P=0,06) a producir una menor cantidad de metano que los fermentadores control. El aumento en las concentraciones de amoníaco podría ser parcialmente debido al aporte de N del hidrolizado de levadura, que supuso 17,4 mg de N diarios en cada fermentador. Estos resultados indicarían que la suplementación con hidrolizado de levadura podría estar indicada para dietas deficientes en N. Los

microorganismos asociados a la fase líquida mostraron una tendencia a aumentar (P=0,07) con la suplementación del hidrolizado de levadura, mientras que no hubo diferencias en el crecimiento microbiano en la fase sólida (P=0,90). Algunos estudios (Kettunen *et al.,* 2016) han observado que los cultivos de *S. cerevisiae* aumentaron el crecimiento microbiano en el rumen, especialmente de las bacterias celulolíticas, aunque otros no han observado efecto (Carro *et al.*, 1992). Las diferencias en los resultados obtenidos en diferentes estudios pueden deberse a la cepa de levadura utilizada (Newbold et al., 1996), pero también al medio y condiciones de cultivo y a la dieta de los animales. En este estudio se utilizó un hidrolizad (levaduras muertas), por lo que el efecto estimulador del crecimiento microbiano podría ser debido al aporte de factores de crecimiento (aminoácidos, péptidos, vitaminas, ácidos orgánicos, …) que son esenciales para el crecimiento de los microorganismos ruminales (Chaucheyras-Durand et al., 2012; Newbold et al., 1996).

Los resultados de este estudio muestran que el hidrolizado de levaduras estimuló el crecimiento microbiano en la fase líquida de los fermentadores y modificó el patrón fermentativo hacia una fermentación más eficiente, debido al aumento de la proporción de propiónico y la reducción de la relación metano/AGV. Sin embargo, sería necesaria la evaluación de los efectos de este producto en condiciones *in vivo* para confirmar los resultados observados.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

• Carro, M.D. *et al*. 1992. Anim. Feed Sci. Technol. 37: 209-220. • Chaucheyras-Durand *et al.* 2012. Intech. 120-152. • Díaz *et al*. 2011. AIDA.1. 309-311. • Galindo Blanco, J. et al. 2010. Rev. Cub. Cienc. Agric. 44: 281- 286. • Giraldo, L.A. *et al*. 2008. Anim. Feed Sci. Technol. 141: 306-325. • Kettunen, H. *et al*. 2016. J. Appl. Anim. Nutr. 4: 1-7. • Martínez, M.E. *et al*. 2010. J. Dairy Sci. 93: 3684-3698. • Meissner, H *et al.,* 2014. Livest. Sci. 162: 115-125. • Newbold, C. J. et al. 1996. Brit. J. Nutr. 76: 249–261. • Pérez, M. 2000. Tesis Doctoral. Universidad Agraria de la Habana. Cuba.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos AGL2008-04707-C02-02 (financiado por el MINECO) y Acción Integrada AIB2010NZ-00190.

EFFECTS OF A YEAST HYDROLYZATE ON RUMINAL FERMENTATION AND MICROBIAL GROWTH IN RUSITEC FERMENTERS

ABSTRACT: The objective of the present study was to investigate the effects of a yeast hydrolyzate of *Saccharomyces cerevisiae*, obtained after ethanol production from sugarcane biomass, on *in vitro* rumen fermentation in Rusitec fermenters inoculated with rumen microorganisms from sheep. Four fermenters were given daily 30 g of diet dry matter (DM: 1:1 alfalfa hay: concentrate), and half of them were supplemented daily with 5 mL of yeast hydrolyzate in a cross-over experimental design with two 14-day incubation periods. Supplementing with yeast hydrolyzate did not affect (P=0.90) total volatile fatty acid (VFA) production, lactate concentrations, DM and neutral detergent fibre degradability or fibrolytic enzyme activity. Compared with the unsupplemented fermenters, yeast hydrolyzate treatment increased ($P < 0.001$) NH_3-N concentrations and molar proportions of propionate and butyrate at the expense of acetate, and decreased ($P < 0.001$) acetate/propionate ratio. In addition, yeast hydrolyzate supplementation tended ($P< 0.07$) to reduce methane/total VFA ratio and to increase microbial growth in the liquid phase of the fermenters. The results indicate that yeast hydrolyzate may be a useful dietary additive for ruminants, because it promoted a shift in fermentation toward propionate production, reduced the methane/total VFA ratio and increased microbial growth.

Keywords: Yeast hydrolyzate, Rusitec, methane, microbial growth