

NR 34. FERMENTACIÓN *IN VITRO* DE FORRAJES LIGNOCELULÓSICOS SUPLEMENTADOS CON DISTINTOS TIPOS Y NIVELES DE CARBOHIDRATOS

A. Barrios-Urdaneta¹, M. Fondevila², M. González-Ronquillo² y C. Castrillo²

¹Facultad de Agronomía, La Universidad del Zulia, Apartado 15205, Maracaibo, ZU 4005. Venezuela.

²Departamento de Producción Animal y Ciencias de los Alimentos. Universidad de Zaragoza. M. Servet 177, 50013 Zaragoza, España. Fax: 34-976-761612. E-Mail: mfonde@posta.unizar.es

Abstract

***In vitro* fermentation of lignocellulosic forages using different sources and levels of carbohydrates as supplement**

The effect of the source and level of carbohydrate supplementation on microbial fermentation of roughages was studied *in vitro* by the gas production technique. Tested supplements (starch, A; pectin, P and cellulose, C) were included at 0, 15, 30, 45 and 60 % of the substrate (ammoniated straw, 200 mg) in duplicates. The amount of gas produced by the supplements themselves was subtracted from the straw + supplement volume, according to the results of an additional set of incubation. Comparison among the effects of supplements was performed in pairs, in three sets of incubation. The higher amount of gas produced from straw was obtained with P ($P < .05$), whereas the effect of A was not different from C ($P > .05$). There was no negative response to increasing levels of P, but increases of A and C linearly reduced gas production from straw.

Palabras claves: suplementación, fermentación de paja, producción de gas

Key words: supplementation, straw fermentation, gas production

Introducción

El uso de alimentos ricos en carbohidratos de fácil aprovechamiento es una práctica tradicionalmente utilizada para intentar mejorar la utilización nutritiva de dietas a base de forrajes de baja calidad. No obstante, según el tipo y nivel de carbohidrato utilizado como suplemento, puede provocar un efecto negativo sobre la actividad fibrolítica de los microorganismos ruminales, y por tanto una disminución en la digestión de los forrajes.

El efecto negativo de la suplementación sobre la degradación de forrajes ha sido explicado fundamentalmente por el descenso del pH hasta niveles considerados críticos para el metabolismo de las bacterias celulolíticas (Hiltner y Dehority, 1983). Sin embargo, algunos autores (Mould y col., 1983; Piwonka y Firkins, 1993) han sugerido que los carbohidratos fácilmente fermentables pueden inhibir la degradación de la pared celular incluso en condiciones óptimas de pH, lo cual ha sido explicado por el tropismo de las bacterias celulolíticas hacia un sustrato de más fácil acceso (El Shazly y col., 1961), por la competencia entre éstas y otras especies bacterianas metabólicamente más activas por la obtención de amoníaco y factores de crecimiento (Russell, 1984), o por un efecto catabolito-represor sobre las enzimas celulolíticas (Huang y Forsberg, 1990).

La magnitud de la respuesta a la suplementación dependerá del tipo de carbohidrato aportado y de su proporción en dietas celulósicas, por su efecto sobre las condiciones del ambiente ruminal (Mertens y Loften, 1980) o sobre la actividad degradativa de las bacterias celulolíticas (Barrios y col., 1995).

Es objeto de este trabajo determinar el efecto del tipo y nivel de carbohidrato utilizado como suplemento sobre la fermentación microbiana de sustratos lignocelulósicos, que se llevó a cabo mediante el estudio de la evolución de la producción de gas *in vitro*.

Materiales y métodos

La fermentación microbiana se determinó a partir del volumen de gas producido empleando jeringas de vidrio según la técnica descrita por Menke y Steingass (1988). Se utilizó paja de cebada tratada con amoníaco (3%) como sustrato lignocelulósico, incluyendo 200 mg de materia seca (MS) por jeringa. Las jeringas se inocularon en anaerobiosis con 30 mL de un medio a base de 33% de líquido ruminal de dos ovejas adultas canuladas, alimentadas con 900 g de una dieta 50:50 de heno de alfalfa y paja de cebada. A esta mezcla se incorporó el suplemento (almidón soluble, A; celulosa, C y pectina, P), incluido a niveles de 0, 15, 30, 45 y 60 % (p/p) respecto a la paja. Las jeringas se incubaron a 39 °C, registrándose la producción de gas tras 2, 4, 6, 8, 12, 24, 30, 36, 48, 60, 72 y 96 horas de incubación.

Se realizaron 3 tandas de incubación, incluyéndose dos suplementos en cada una de ellas, de manera que se

podrían contrastar los tres tratamientos entre sí. Se incubaron en cada tanda dos jeringas de cada suplemento y nivel, dos jeringas sin sustrato ni suplemento como blancos, y otras dos con una paja estándar para poder comparar los valores entre tandas. Además se realizó otra tanda sin sustrato incluyendo distintos niveles de los carbohidratos empleados como suplementos, para determinar la producción de gas debida a la fermentación de éstos, que se empleó para corregir el volumen de gas producido en las tandas anteriores y establecer la producción de gas debida a la fermentación de la paja. Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza por tanda y por suplemento, para comparar entre sí los suplementos y los niveles de cada suplemento, respectivamente. Se establecieron regresiones lineales entre el volumen de gas producido por la fermentación de la paja y el nivel de suplementación, eliminando el efecto debido a la tanda de incubación mediante covarianza. Las diferencias entre las medias de los tratamientos experimentales se contrastaron según el procedimiento de Student Newman Keuls.

Resultados y discusión

Aunque en el trabajo se estudió la fermentación a los tiempos referidos anteriormente, por razones de espacio en las tablas de este resumen se incluyen únicamente los datos referentes a las horas 24, 36 y 48. En el cuadro 1 se presenta la comparación entre pares de suplementos, realizada en tres tandas independientes, en su efecto sobre el volumen de gas producido por la fermentación de la paja una vez restada la producción de gas debida al suplemento.

La fermentación de paja fue superior cuando fue suplementada con P que con A o C, como muestran los resultados de las Tandas I ($P < .001$) y III ($P < .05$), respectivamente. Por contra, el análisis de la Tanda II muestra que no hubo diferencias significativas entre A y C ($P > .05$). El comportamiento similar entre almidón y celulosa puede ser explicado por el estado purificado de ésta, que permite un fácil acceso para las bacterias e incrementa su ritmo de fermentación respecto a fuentes naturales de celulosa. Hay que resaltar que el ritmo de producción de gas al inicio de la fermentación fue más lento en el medio con C que en P o A.

Cuadro 1. Efecto del tipo de carbohidrato suplementado sobre la producción de gas debida a la fermentación de la paja (valores medios para cada suplemento, $n = 8$).

Tanda	Suplem.	24 h		36 h		48 h	
		mL	RSD	mL	RSD	mL	RSD
I	A	22.8 ^b		26.3 ^b		31.7 ^b	
	P	29.6 ^a	1.85	33.8 ^a	1.45	36.5 ^a	2.09
II	A	25.1		31.7		38.9	
	C	27.4	3.70	33.8	4.19	39.7	4.53
III	C	24.4 ^b		34.6 ^b		37.9 ^b	
	P	29.5 ^a	3.48	41.4 ^a	2.19	41.6 ^a	2.56

En cada tanda y tiempo de control, letras diferentes indican diferencias significativas ($P < .05$).

No se observó un efecto del nivel de suplementación con P sobre la producción de gas debida a la fermentación de la paja ($P > .05$; cuadro 2). Estos resultados coinciden con que las pendientes de las rectas de regresión entre el volumen de gas y el nivel de suplementación, que no fueron diferentes de cero ($P > .10$). A medida que se incrementó el nivel de suplementación tanto de A como de C, se observó una disminución de la producción de gas promovida por la paja ($P < .05$), excepto con C a las 48 h ($P < .10$), lo cual es confirmado por el signo negativo de los coeficientes de regresión con estos suplementos. La interacción tanda x nivel en A a las 36 y 48 h fue significativa ($P < .05$), por lo que en el cuadro 2 se incluyen los coeficientes de regresión de cada tanda. No obstante, en ambos casos se registró un descenso lineal significativo en el volumen de gas producido por la paja al aumentar el nivel de suplementación.

Cuadro 2. Producción de gas debida a la fermentación de la paja en función del nivel de suplementación (n=4).

Supl.	Hora	Nivel						Regresión		
		0	15 %	30 %	45 %	60 %	RSD	<i>b</i>	e.s.	RSD
A	24	27.4 ^a	28.6 ^a	25.8 ^{ab}	23.5 ^b	18.1 ^c	1.44	-0.16*	0.032	2.88
	36	38.2 ^a	35.1 ^b	31.3 ^c	28.9 ^d	22.9 ^e	1.36	-0.29*		
	48	43.9 ^a	40.4 ^b	37.2 ^{bc}	35.3 ^c	28.4 ^d	1.99	-0.19*	0.039	
C	24	31.6 ^a	31.4 ^a	25.3 ^{ab}	24.9 ^{ab}	21.9 ^b	3.55	0.026	1.70	3.31
	36	40.9 ^a	39.8 ^a	33.3 ^{ab}	34.0 ^{ab}	31.1 ^b	3.99	-0.18*	0.033	
	48	45.6	44.2	37.2	38.7	36.1	4.74	-0.17*	0.035	
P	24	27.9	29.7	27.9	32.3	28.3	3.51	0.02	0.048	4.33
	36	40.6	36.8	37.6	40.9	37.8	2.26	0.01	0.035	
	48	44.3	38.9	38.9	41.7	35.2	2.95	-0.16*	0.043	

En cada suplemento y hora, letras diferentes indican diferencias significativas ($P < .05$). * valores diferentes de cero ($P < .05$)

Conclusiones

La suplementación con pectina promueve un mejor aprovechamiento de la paja de cebada tratada con amoníaco en el rumen, respecto a los valores registrados con almidón o celulosa como suplementos en el medio. Entre éstos últimos, no se observan diferencias en cuanto a su efecto sobre la fermentación de la paja. El aumento del nivel de inclusión de almidón o celulosa en el medio aumenta linealmente el efecto negativo de la suplementación, mientras que no se observa respuesta alguna al nivel de inclusión de pectina.

Literatura citada

- Barrios, A., M. Fondevila, J. M. Peiró y C. Castrillo. 1995. *Ann Zootech*, 45, Suppl, 297
- El-Shazly, K., B. A. Dehority y R. R. Johnson. 1961. *J. Anim. Sci.*, 20, 268-273.
- Hiltner, P. y B. A. Dehority. 1983. *Appl. Environ. Microbiol.*, 46, 642-648.
- Huang, L. y C. W. Forsberg. 1990. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 1221-1228.
- Menke, K. H. y H. Steingass. 1988. *Arch. Anim. Nutr.* 28, 7-55.
- Mertens, D. R. y J. R. Loften. 1980. *J. Dairy Sci.*, 63, 1437-1446.
- Mould, F. L., E. R. Ørskov y S. O. Mann. 1983. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 10, 15-30.
- Piwonka, E. J y J. L. Firkins. 1993. *J. Dairy Sci.*, 76, 129-139.
- Russell, J. B. 1984. En: Gilchrist & Mackie (Eds.). *Herbivore nutrition in the subtropics and tropics*. The Science Press, Pretoria. pp. 313-345.