

EFFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN MICROBIANA SOBRE LA VALORACIÓN *IN SITU* DEL GRANO DE TRIGO*

Arroyo, J. M^a., González, J., Rodríguez, C. A., Alvir, M.R., Ouarti, M.
Dpto. Producción Animal. E.T.S.I. Agrónomos. Univ. Politécnica de Madrid. 28040 Madrid.
Email: javier.gonzalez@upm.es

INTRODUCCION

Los sistemas actuales de valoración proteica para rumiantes requieren estimas efectivas fiables de la degradabilidad ruminal (DE) y de la digestibilidad intestinal de la fracción no degradada de los alimentos (DIE). Aunque existen datos de DE para numerosos cereales, los datos de DIE son mas escasos y apenas hay información para ambos parámetros tras corregir la contaminación microbiana que se produce en el rumen. El objetivo del presente trabajo fue determinar el valor proteico del trigo blando, midiendo la DE y la DIE de la proteína, usando N¹⁵ como marcador para corregir esta contaminación. Para la PB, también se han comparado las estimas de DE usando los métodos de i) integración matemática (Ørskov y McDonald (1979) y ii) el propuesto por González *et al.* (2005), basado en la generación de una muestra representativa de la fracción de MS indegradada del alimento, mezclando los residuos incubados de acuerdo con las cinéticas de degradación y transito.

MATERIAL Y METODOS

En estos ensayos se usaron tres corderos adultos, fistulizados en rumen y duodeno, alimentados con una ración de heno de ray-grass italiano picado (40%) y concentrado (60%), compuesto por trigo blando (78,7%), harina de girasol (20,3%) y minerales y vitaminas (1%). La ración se distribuyó a razón de 75g MS/Kg^{0,75}, en 6 comidas diarias. Se realizaron dos incubaciones en el rumen con muestras duplicadas, utilizando bolsas de nylon (7x11 cm de dimensiones internas y 46 µm de poro) conteniendo 3 g de muestra fresca (molida a 2 mm). Las bolsas se extrajeron del rumen tras tiempos de 2, 4, 8, 16, 24 y 48 h, siendo someramente lavadas con agua corriente y congeladas a -20 °C. Tras su descongelación, se lavaron en una mini-lavadora de turbina (3x5 min.). Este mismo proceso se aplicó para obtener el valor a 0 h. Una de las réplicas se volvió a congelar y se liofilizó. La otra se deseco en estufa (80 °C; 48 h) y se analizó para MS y N (método Dumas). La evolución en el tiempo de la desaparición de MS y PB se ajustó para cada animal, mediante regresión no lineal, al modelo exponencial de Ørskov y McDonald (1979), estimándose los valores aparentes de DE para MS y PB de acuerdo a los mismos autores. A este fin, se asumieron las tasas fraccionales de salida de partículas del rumen (k_p) determinadas para cada cordero en este mismo experimento mediante el ajuste (Grovm y Williams, 1973) de la evolución de la concentración de iterbio (Yb) en la digesta duodenal tras el suministro de una dosis simple de harina de girasol (10 mg de Yb/g de alimento). Las muestras liofilizadas se utilizaron para generar, en cada cordero, una muestra representativa del flujo de MS no degradada (González *et al.*, 2003). A partir de estas muestras se determinaron los valores aparentes y corregidos de DE para MS, MO y PB y la DIE de la MS y PB. La DE se obtuvo a partir de las concentraciones en la muestra compuesta (X) y en el alimento (Y) y del valor de DE de la MS obtenido por el método de Ørskov y McDonald: $DE = 1 - [X (1-DEMS)/Y]$. La DIE se determinó mediante la incubación de estas muestras (200 mg) en microbolsas de nylon móviles (mismo material; Ø= 2,2 cm; 8 bolsas/cordero). Las bolsas se introdujeron por la cánula duodenal y se recuperaron en las heces, tras lo cual se procesaron de forma análoga a la ya indicada para determinar la DIE de la MS. Los residuos se mezclaron para cada cordero y se analizaron para N. A partir del contenido en PB (Z), se determinó la DIE como: $DIE = 1 - [Z(1-DIEDM)/X]$. Estos valores y los de DE fueron corregidos por la contaminación microbiana producida en el rumen. Para ello, a través de la cánula ruminal, se realizó una infusión continua de (¹⁵NH₄)₂SO₄ (30 mg ¹⁵N/día, 98 átomos %), desde 5 días

* Trabajo financiado por la CICYT. Proyecto nº AGL 2005-01712.

antes de comenzar las incubaciones hasta su final. En ese momento, y antes de suspender la infusión, se aislaron muestras de bacterias adherentes, según la técnica descrita por Rodríguez *et al.* (2000), que se analizaron para MS, MO, N y N¹⁵/N.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los valores aparentes de los parámetros de las cinéticas de degradación y de la DE de MS y PB se muestran en la Tabla 1. Es destacable la alta desviación estándar (d.e.) obtenida para la tasa de degradación (k_d), tanto para MS como para PB, como consecuencia, en buena parte, de los elevados valores observados en uno de los corderos (78,5 y 62,4 %/h, respectivamente). El valor medio de la tasa de tránsito (k_p) fue de 6,23 %/h (d.e.: 0,667). Para la DE de la PB no se observaron diferencias entre los métodos de integración matemática y el simplificado aquí propuesto: 82.4 vs. 82.2% (e.s.m. 1.10; $P=0.953$), lo que es concordante con los resultados obtenidos en diferentes alimentos por González *et al.* (2005). Los valores aparentes de DE de la MS y PB son superiores a los obtenidos por González *et al.* (2003) para una muestra de trigo tratada con calor (82,4 y 70,5 %, respectivamente), siendo también superiores a los indicados para la PB por los sistemas PDI (Vérité *et al.* 1988) o NRC (2001): 74 y 78,1%, respectivamente. La principal causa de estas diferencias serían los muy elevados valores de k_d obtenidos en el presente estudio.

Tabla 1. Valores aparentes de los parámetros de las cinéticas de degradación y degradabilidad efectiva de la materia seca (MS) y proteína bruta (PB) de una muestra de grano de trigo

	DM	CP
a (%)	36,4 (0,16)	16,6 (0,39)
b (%)	57,0 (0,56)	76,6 (0,83)
r (%)	6,55 (0,405)	6,81 (0,542)
k_d (%/h)	60,9 (15,3)	42,0 (17,7)
DE (%)	87,9 (1,94)	82,4 (4,42)

a , b y r representan las fracciones soluble, degradable e indegradable respectivamente. k_d tasa de degradación de la fracción b .

Los valores entre paréntesis representan la desviación estándar.

Los efectos de la corrección de la contaminación microbiana en las estimas de MS y PB para DE (mas MO), DIE y fracción digestible en el intestino (FDI) se muestran en la Tabla 2. Esta corrección resulta en pequeños pero significativos incrementos en la DE en todas las fracciones analizadas, que fueron del mismo orden que los obtenidos por Rodríguez y González (2006) para concentrados con bajo contenido en fibra. Esta corrección se asocia también con descensos para la DIE, al digerirse los microorganismos en el intestino y, por tanto, para FDI. Como los efectos de esta contaminación sobre DE y DIE son acumulativos, las estimas aparentes sobrestiman los valores FDI corregidos en 1,8 % ($P=0.038$) y 4.0 % ($P=0.035$), para la MS y la PB, respectivamente. Dado el bajo escape del rumen de ambas fracciones, estos errores aumentarían sensiblemente al considerarse, además de k_p , los mecanismos de atrapamiento de partículas en éste (González *et al.*, 2006). El valor aparente de DIE de la PB es similar al obtenido para la muestra de trigo tratada con calor anteriormente indicada (88,9%), siendo, en cambio, inferior al valor de 95% asumido para la digestibilidad intestinal por los sistemas PDI o NRC. El valor corregido de FDI de la PB (15% del total de PB) es pues inferior a las indicaciones de estos sistemas de racionamiento (27,4 y 20.8% para PDI y NRC, respectivamente).

Tabla 2. Efecto de la contaminación microbiana en el rumen sobre las estimas de degradabilidad ruminal efectiva (DE), digestibilidad intestinal efectiva (DIE) y fracción digestible en el intestino (FDI) de la materia seca (MS), materia orgánica (MO) y proteína bruta (PB) del grano de trigo.

	Aparente	Corregida	e. s. m.	P
<u>DE</u>				
MS	87,9	88,1	0,02	0.039
MO	88,1	88,2	0,02	0.040
PB	82,2	82,8	0,08	0.036
<u>DIE</u>				
MS	66,5	66,1	0,04	0.020
PB	87,7	87,3	0,05	0.036
<u>FDI</u>				
MS	8,03	7,89	0,020	0.038
PB	15,6	15,0	0,080	0.035

Considerando la metodología y la eficacia de síntesis microbiana indicadas por el sistema PDI, los aportes de PB digestible microbiana representarían el 80.8% del PDIE total de este alimento, mientras que si se considera la DE de la MO determinada *in situ* en este trabajo se obtiene un valor similar (81.3%). En su conjunto los resultados muestran que valor proteico de este alimento esta mas asociado a la síntesis de proteína microbiana que pueda generar en el rumen que lo que se considera usualmente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- González, J., Ouarti, M., Alvir, M.R., Rodríguez, C. A. 2005. Propuesta de un método *in situ* simplificado para la evaluación proteica de los alimentos en rumiantes. ITEA Vol. Extra 25, 581-583.
- González, J., Ouarti, M., Rodríguez, C.A., Alvir, M.R. 2006. Effects of considering the rate of comminution of particles and microbial contamination on the accuracy of *in situ* studies of feed protein degradability in ruminants. Anim. Feed Sci. Technol., 125: 89-98.
- González, J., Faria-Mármol, J., Matesanz, B., Rodríguez, C. A., Alvir, M. R. 2003. *In situ* intestinal digestibility of dry matter and crude protein of cereal grains and rapeseed in sheep. Reprod., Nutr., Develop., 43: 29-40.
- Grovum, W.L., Williams, V.J., 1973. Rate of passage of digesta in sheep. 4. Passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate-constants derived from the changes in concentration of marker in faeces. Br. J. Nutr. 30, 313-329.
- NRC 2001. Nutrient requirements of dairy cattle, seventh revised edition. National Academy Press, Washington DC.
- Ørskov, E. R., McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. J. Agric. Sci., Camb., 92: 499-503.
- Rodríguez, C. A., González, J. 2006. Composition of bacteria harvested from the liquid and solid fractions of the rumen of sheep as influenced by intake level. Br. J. Nutr., 96: 316-325.
- Rodríguez, C. A., González, J., Alvir, M. R., Centeno, C., Lamrani, F. 2000. Composition of bacteria harvested from the liquid and solid fractions of the rumen of sheep as influenced by intake level. Br. J. Nutr., 84: 369-376.
- Vérité, T, Chapoutot, P, Michalet-Doreau, B, Peyraud, J.L, Poncet, C. 1987. Revisión du système des protéines digestibles dans l'intestin (PDI). Bull. Techn. CRZV, Theix, Inra. 70: 19-34.