

EFFECTO DE DIFERENTES INÓCULOS RUMINALES DE VACUNO LECHERO EN LA REPRODUCIBILIDAD DE LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* (DAISY[®]) DE LA MATERIA SECA Y LA FIBRA NEUTRO DETERGENTE *

Arriaga, H. ¹; Zanfi, C. ²; Merino, P. ¹; Calsamiglia, S. ³; Spanghero, M. ²

¹Dpto. Agroecosistemas y Recursos Naturales, NEIKER-Tecnalia, 48160 Derio (Bizkaia) (harriaga@neiker.net)

²Dpto. Scienze Animali, Università degli Studi di Udine, 33010 Pagnacco (Italia)

³Dpto. Ciencia Animal y de los Alimentos, Universidad Autónoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

Las características del líquido ruminal se consideran como una de las principales fuentes de variación en la fermentación *in vitro* de los ingredientes (Hervás *et al.*, 2005). Actualmente, la cada vez más estricta legislación sobre animales de experimentación (RD 1201/2005) supone un problema al acceso del líquido ruminal en condiciones controladas y un aumento de la distancia entre el ganado fistulado y el laboratorio analítico (Robinson *et al.*, 1999). El objetivo del presente trabajo fue estudiar la reproducibilidad de la digestibilidad de la materia seca (dMS) y la digestibilidad de la FND (dFND) *in vitro* (Daisy[®]) en cuatro ingredientes habituales en raciones de vacuno lechero tras incubaciones de 30 y 48 horas al variar la naturaleza del inóculo ruminal y el tiempo transcurrido entre la toma del inóculo y el inicio de la incubación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cuatro ingredientes habituales de raciones de vacuno lechero en Friuli (noreste de Italia) fueron seleccionados para la determinación de la reproducibilidad de la dMS y de la dFND. Las incubaciones se realizaron con un ensilado de maíz, una alfalfa henificada, un heno de hierba y una pulpa de remolacha pelletizada. Este proceso se repitió durante 5 semanas entre los meses de junio y agosto de 2006. Las muestras del inóculo ruminal fueron tomadas del ganado vacuno lechero (razas Holstein y Pezzata Rossa italiana) recién sacrificado en el matadero. El líquido extraído de tres rúmenes fue filtrado, homogeneizado e introducido hasta un volumen final de 2 l. en una botella mantenida en condiciones anaeróbicas. Este inóculo de líquido ruminal fue transportado en condiciones anaeróbicas y a 39°C hasta el laboratorio. Previamente, 0,25 g de cada alimento fue pesado por triplicado en bolsas F57 (Ankom Technology) y la solución tampón estándar fue atemperada durante una hora a 39°C. Todas las incubaciones de los alimentos se realizaron por duplicado (2 botellas) durante 30 y 48 horas, de modo que durante 5 ensayos se determinó la reproducibilidad de la dMS y dFND. Además, durante los 3 primeros ensayos 2 de las botellas fueron incubadas justo tras la llegada del líquido ruminal al laboratorio (0 horas) en tanto que las otras 2 botellas fueron incubadas 4 horas después de la llegada al laboratorio. En los dos últimos ensayos, 2 botellas fueron incubadas a pH de ensayo en tanto que las otras 2 botellas fueron fijadas a pH 7. Una muestra del líquido ruminal original y de la solución líquido ruminal-solución tampón fueron tomadas previamente a la incubación para determinar el pH. Igualmente se determinó el pH de la solución a 30 y 48 horas de incubación. Tras las incubaciones, las bolsas fueron extraídas de las botellas, lavadas con abundante agua y secadas durante 24 h a 105°C para la determinación de la dMS. Una vez determinada la dMS, las bolsas fueron introducidas en el analizador de fibras (ANKOM Technology) para la determinación de FND y posterior cálculo de la dFND. Debido a un problema surgido en la preparación de la solución neutro detergente durante el ensayo 3, las analíticas de FND de este ensayo no fueron considerados en el presente estudio.

* Trabajo financiado por la Acción Integrada España-Italia (HI2004-0313).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores medios de la dMS a 30 y 48 horas de incubación correspondientes a 5 muestreos se muestran en la Tabla 1. El coeficiente de variación (CV) de la dMS entre ensayos presentó valores inferiores al 10% (máximo de 6,5%) para todos los ingredientes estudiados en 30 y 48 horas de incubación. El aumento de la dMS entre las 30 y 48 horas de incubación fue significativo en todos los ingredientes ($p < 0,05$), oscilando esta variación entre un 10% del ensilado de maíz y un 16,4 de la pulpa de remolacha. Los resultados medios de la dFND a 30 y 48 horas de incubación correspondientes a 4 muestreos se muestran en la Tabla 2. El CV (%) de la dFND, al contrario que dMS, presentó un significativo efecto del tipo de ingrediente ($p < 0,05$) al observarse valores de entorno al 7% en la alfalfa henificada y valores entorno al 25% para el ensilado de maíz. El aumento de la dFND entre las 30 y 48 horas de incubación fue superior a la dMS, oscilando entre un 19,8% para la alfalfa y un 30,2% para el ensilado de maíz.

Tabla 1 y Tabla 2. Reproducibilidad de la dMS y dFND a 30 y 48 horas de incubación en 4 ingredientes habituales en raciones de vacuno lechero.

| Tiempo (h) | Muestra | dMS (%) | Desv. Est | CV(%) |
|------------|---------|---------|-----------|-------|
| 30h | Alfalfa | 47.2 | 2.0 | 4.3 |
| | Heno | 52.1 | 2.4 | 4.6 |
| | Silo | 54.4 | 2.1 | 3.8 |
| | Pulpa | 60.1 | 3.9 | 6.5 |
| 48h | Alfalfa | 52.5 | 2.2 | 4.2 |
| | Heno | 59.7 | 3.1 | 5.1 |
| | Silo | 60.5 | 3.6 | 6.0 |
| | Pulpa | 71.9 | 3.8 | 5.3 |

| Tiempo (h) | Muestra | dFND (%) | Desv. Est | CV(%) |
|------------|---------|----------|-----------|-------|
| 30h | Alfalfa | 25.7 | 1.7 | 6.8 |
| | Heno | 34.7 | 6.3 | 18.3 |
| | Silo | 26.0 | 7.3 | 28.0 |
| | Pulpa | 47.5 | 8.9 | 18.7 |
| 48h | Alfalfa | 32.0 | 2.7 | 8.6 |
| | Heno | 46.7 | 3.6 | 7.8 |
| | Silo | 37.3 | 7.8 | 21.0 |
| | Pulpa | 65.1 | 5.3 | 8.1 |

El efecto del tiempo transcurrido entre el inicio de una primera incubación (0 horas) y una posterior incubación (4 horas) sobre la dMS se muestra en la Tabla 3 y Tabla 4. El CV (%) dentro de cada tiempo de incubación (30 o 48 horas) no difirió en un porcentaje superior al 10% al iniciar la incubación a la hora 0 o al iniciar la incubación 4 horas después. Sin embargo, el aumento de dMS fue superior entre las 30 y las 48 horas de incubación en aquellas botellas incubadas 4 horas después del inicio de las primeras incubaciones ($p < 0,05$), con un incremento sobre éstas primeras del 10,0%, 7,2%, 9,7% y 8,1% para la alfalfa henificada, el heno de hierba, el silo de maíz y la pulpa de remolacha, respectivamente. La alfalfa henificada fue el único ingrediente que mostró significación estadística con el cambio del tiempo de incubación de 0 horas a 4 horas ($p < 0,05$), disminuyendo la dMS en las 30 primeras horas al incubarlos con 4 horas de retraso y aumentándolo entre las 30 y 48 horas de incubación. En relación al efecto del tiempo transcurrido entre el inicio de una primera incubación (0 horas) y una posterior incubación (4 horas) sobre la dFND, éstas se muestran en la Tabla 5 y Tabla 6. El CV (%) no mostró relación alguna a la disminución según los alimentos fueron incubados en la primera incubación (0 horas) o incubados 4 horas después. Así, al contrario de lo observado para la dMS, la dFND no aumentó en las botellas incubadas 4 horas después de la incubación inicial a partir de la hora 30 de incubación. Debido a la variabilidad de los resultados no se hallaron diferencias significativas entre la dFND y los tiempos de inicio de incubación ($p > 0,05$). El pH inicial de los distintos inóculos ruminales osciló entre un pH mínimo 5,86 y máximo de 6,23 en tanto que el pH de la solución tampón y el líquido ruminal osciló entre un pH mínimo de 6,26 y máximo de 7,0 (fijado en los ensayos 4 y 5). La variabilidad observada para la dMS y para la dFND no pudo asociarse significativamente al pH del líquido ruminal o al pH de la solución tampón y el líquido ruminal ($p > 0,05$).

Tabla 3 y Tabla 4. Reproducibilidad de dMS a 30 y 48 horas de incubación e incubados a tiempo 0 horas y 4 horas después de la primera incubación.

| Inicio (h) | Tiempo (h) | Muestra | dMS (%) | Desv. Est | CV(%) |
|------------|------------|---------|---------|-----------|-------|
| 0h | 30h | Alfalfa | 47.8 | 1.7 | 3.6 |
| | | Heno | 51.9 | 2.3 | 4.5 |
| | | Silo | 54.0 | 1.9 | 3.5 |
| | | Pulpa | 61.9 | 2.4 | 3.9 |
| 4h | 30h | Alfalfa | 44.7 | 2.5 | 5.6 |
| | | Heno | 50.3 | 4.6 | 9.1 |
| | | Silo | 51.6 | 5.1 | 9.9 |
| | | Pulpa | 60.4 | 6.4 | 10.6 |

| Inicio (h) | Tiempo (h) | Muestra | dMS (%) | Desv. Est | CV(%) |
|------------|------------|---------|---------|-----------|-------|
| 0h | 48h | Alfalfa | 51.5 | 1.7 | 3.3 |
| | | Heno | 58.0 | 4.0 | 6.9 |
| | | Silo | 58.1 | 4.2 | 7.3 |
| | | Pulpa | 69.8 | 4.4 | 6.2 |
| 4h | 48h | Alfalfa | 54.0 | 2.2 | 4.1 |
| | | Heno | 61.2 | 3.4 | 5.6 |
| | | Silo | 61.9 | 4.5 | 7.3 |
| | | Pulpa | 75.0 | 5.5 | 7.3 |

Tabla 5 y Tabla 6. Reproducibilidad de la dFND a 30 y 48 horas de incubación e incubados a tiempo 0 horas y 4 horas después de la primera incubación.

| Inicio (h) | Tiempo (h) | Muestra | dFND (%) | Desv. Est | CV(%) |
|------------|------------|---------|----------|-----------|-------|
| 0h | 30h | Alfalfa | 25.1 | 2.1 | 8.2 |
| | | Heno | 34.9 | 4.6 | 13.2 |
| | | Silo | 25.5 | 6.9 | 26.9 |
| | | Pulpa | 49.5 | 7.7 | 15.6 |
| 4h | 30h | Alfalfa | 27.8 | 1.0 | 3.5 |
| | | Heno | 35.8 | 6.5 | 18.3 |
| | | Silo | 24.8 | 10.7 | 43.1 |
| | | Pulpa | 57.0 | 7.7 | 13.5 |

| Inicio (h) | Tiempo (h) | Muestra | dFND (%) | Desv. Est | CV(%) |
|------------|------------|---------|----------|-----------|-------|
| 0h | 48h | Alfalfa | 32.5 | 4.2 | 13.0 |
| | | Heno | 44.7 | 4.1 | 9.2 |
| | | Silo | 32.7 | 10.2 | 31.2 |
| | | Pulpa | 64.8 | 6.6 | 10.3 |
| 4h | 48h | Alfalfa | 34.6 | 1.6 | 4.7 |
| | | Heno | 44.7 | 8.0 | 17.9 |
| | | Silo | 37.9 | 8.2 | 21.7 |
| | | Pulpa | 71.5 | 2.3 | 3.2 |

Como conclusión, la dMS mostró una mejor reproducibilidad que la dFND en los 4 ingredientes incubados con diferentes inóculos de líquido ruminal, mostrando la dFND una distinta respuesta a la reproducibilidad en función del tipo de ingrediente. Incubaciones de 30h frente a 48h reducen en mayor proporción el resultado de la dFND en relación a la dMS. La dMS y la dFND no mostraron respuesta significativa uniforme al inicio de la incubación a 0 horas o a 4 horas tras la llegada al laboratorio en condiciones anaeróbicas y a 39°C.

BIBLIOGRAFIA

Hervás, G., Frutos, P., Giráldez, F.J., Mora, M.J., Fernández, B., Mantecón, A.R. 2005. Effect of preservation on fermentative activity of rumen fluid inoculum for in vitro gas production techniques. *Animal Feed Science and Technology* 123-124 :107-118 • Robinson, P.H., Campbell, M., Fadel, J.G. 1999. Influence of storage time and temperature on in vitro digestion of neutral detergent fibre at 48 h, and comparison to 48 h in sacco neutral detergent fibre digestion. *Animal Feed Science and Technology* 80 :257-266.