

EFFECTOS DE LEVADURAS SOBRE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA RUMINAL EN UN SISTEMA DE FERMENTACIÓN DE CULTIVO CONTINUO

Moya, D., Calsamiglia, S., Ferret, A., Fuentes, M.C.

Dept. de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona,
08193 - Bellaterra, España. E-mail: Sergio.Calsamiglia@uab.es

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de engorde intensivo de terneros utilizan cantidades elevadas de cereales. Sin embargo, dietas rápidamente fermentables incrementan la producción de ácidos grasos volátiles y reducen el pH ruminal provocando desordenes en la fermentación microbiana ruminal (como acidosis y meteorismo), lo que conlleva al incremento de los costes de producción (Nocek, 1997). Durante muchos años se han utilizado antibióticos ionóforos en los sistemas de producción intensivo de carne para prevenir o reducir la incidencia de desordenes digestivos, así como para incrementar la producción de propionato (más eficiente en términos de energía) y reducir la producción del metano (Bergen y Bates, 1984). Sin embargo, la prohibición del uso de estos antibióticos en la Unión Europea obliga a la investigación y desarrollo de aditivos que los sustituyan. Las levaduras se han posicionado recientemente como una buena alternativa en la UE. Su principal efecto es un aumento en el total de bacterias celulolíticas, resultando en una mayor digestión de la fibra, ingestión de alimento y mejora productiva.

El objetivo del experimento fue evaluar el efecto de la adición de levaduras y dos tipos de almidón (rápido vs lenta degradación) sobre la fermentación microbiana ruminal usando un sistema de fermentación in vitro de doble flujo continuo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 fermentadores (1320 ml) de doble flujo continuo desarrollados por Hoover et al. (1976) para evaluar cuatro tratamientos en dos periodos, resultando así cuatro réplicas por cada tratamiento. El experimento se diseñó como bloques al azar con arreglo factorial 2 x 2, dónde los factores principales fueron la adición de levaduras vivas (Levucell®, Lallemand): sin levaduras (**SL**) vs 2×10^7 UFC de levaduras/g de dieta (**CL**); y el tipo de almidón: lentamente degradable (**LD**, 55.2 % maíz, 26.7 % cascarilla de soja, 7.8 % harina de soja, 0.5 % minerales, 0.1 % urea y 9.7 % heno de festuca,) vs rápidamente degradable (**RD**, 89.2 % cebada, 0.9 % minerales, 0.1 % urea y 9.8 % heno de festuca). Ambas dietas eran isoproteicas (16.6 ± 0.77 % proteína bruta) y fueron formuladas cumpliendo las recomendaciones del NRC (1996) para alimentar terneros de engorde. El inóculo provenía de dos terneras alimentadas con una dieta rica en concentrado. Se mantuvo constante la temperatura (38.5 °C) y las tasas de dilución de las fracciones líquidas y sólidas (12 y 5 %/h, respectivamente). Se permitió que el pH fluctuara libremente entre 6.6 y 5.5, y los límites se controlaron con infusiones de HCl (3 N) y NaOH (5 N). Se suministraron a cada fermentador 80 g/día de MS (3 porciones iguales a intervalos de 8 h) de alimento. El experimento consistió en 2 periodos consecutivos de 6 días de adaptación y 3 de muestreo. Cada día de muestreo se recolectaron muestras a las 1.5 horas después de la alimentación para determinar N soluble en ácido túngstico (N-TA) y en ácido tricloracético (N-TCA), actividad enzimática (celulolítica, amilolítica y proteolítica), concentración de N amoniacal y de ácidos grasos volátiles (AGV) totales e individuales; y a las 2 horas después de la alimentación para la determinación de DNA de *Megasphaera elsdenii* y *Streptococcus bovis* por PCR a tiempo real. Cada día de muestreo se recolectaron 500 ml de efluente. De los 1500 ml obtenidos en los 3 días, se extrajeron muestras para la determinación de N total, de N amoniacal, y para la determinación de AGV. Se liofilizaron 600 ml de efluente y se analizó la MS, MO, FND, FAD, y bases púricas. Las bacterias de la fase sólida y líquida fueron aisladas

de cada fermentador según Whitehouse *et al.* (1994) y Olubobokun y Craig (1990). Posteriormente fueron liofilizadas y analizadas para MS, MO, N y bases púricas. El diseño experimental utilizado fue de bloques completamente al azar con un arreglo factorial 2x2, con 4 tratamientos y 2 períodos, considerando el período como bloque. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS (versión 9.1 SAS Institute, Inc., Cary, NC). Los resultados obtenidos los días de muestreo se analizaron usando el procedimiento MIXED para medidas repetidas, considerando el fermentador como el sujeto con una estructura de CS. Los resultados obtenidos del análisis de los efluentes y las curvas de pH fueron analizados con el procedimiento GLM. Ambos modelos incluyeron los factores tipo de almidón, adición de levadura y la interacción entre ambos como factores fijos.

RESULTADOS

La dieta C contenía 89.7% de MS, 16.1% de PB, 16.1% de FND y 6.7% de FAD, mientras que la dieta M, 88.1% de MS, 17.2% de PB, 27.8% de FND y 18.0% de FAD.

La Tabla 1 muestra los efectos de los tratamientos sobre la digestibilidad de los nutrientes y el metabolismo del nitrógeno, mientras que los efectos sobre el perfil de AGV, actividad enzimática, fluctuación de pH y población microbiana se muestran en la Tabla 2.

Tabla 1. Efectos de la adición de levaduras y del tipo de almidón sobre la digestibilidad de los nutrientes y el metabolismo del nitrógeno.

Items	TRATAMIENTOS ¹				EEM	P-VALOR		
	SL	CL	LD	RD		Lev	Alm	Alm*Lev
Digestibilidad verdadera, %								
MS	61.9	63.1	60.8	64.3	2.72	0.40	0.04	0.63
MO	44.2	45.1	42.4	47.0	2.43	0.46	<0.01	0.87
Digestibilidad FND	27.2	26.0	43.4	9.74	7.54	0.74	<0.01	0.40
Digestibilidad FAD	43.0	43.1	57.0	29.2	10.9	0.98	<0.01	0.53
Flujo de N, g/d								
Amoniacal	0.13	0.10	0.03	0.20	0.01	<0.01	<0.01	0.09
No amoniacal	2.51	2.52	2.58	2.45	0.07	0.67	0.02	0.80
Bacteriano	0.72	0.81	0.73	0.80	0.08	0.05	0.14	0.27
Dietario	1.79	1.71	1.85	1.65	0.09	0.07	<0.01	0.33
Degradación PB, %	16.1	19.6	15.8	19.9	4.16	0.07	0.04	0.29
ESPM ²	21.3	23.4	22.3	22.3	2.78	0.09	0.98	0.25
N-NH ₃ , mg/dl	3.51	2.61	0.84	5.28	0.38	<0.01	<0.01	0.15
Péptidos, mg/dl	10.5	11.0	7.01	14.4	1.45	0.48	<0.01	0.96
Aminoácidos, mg/dl	0.83	1.30	1.69	0.45	0.32	0.20	0.01	0.84

1: Los tratamientos fueron: sin levaduras (SL), con levaduras (CL), almidón lentamente degradable (LD) y almidón rápidamente degradable (RD)

2: Eficiencia de síntesis de proteína microbiana (g N/kg MO realmente digerida)

El tratamiento RD aumentó ($P < 0.05$) la digestibilidad de la MS y de la MO, el flujo de N amoniacal, la degradación de la PB, la producción de N amoniacal y de péptidos, el área bajo pH 6 y la población de *M. elsdenii*; y redujo ($P < 0.05$) la digestibilidad de la FND y FAD, el flujo de N dietario, la concentración de aminoácidos, de AGV ramificados y de propionato, la actividad enzimática amilolítica y celulolítica, y los minutos hasta el pH mínimo.

El tratamiento CL redujo el flujo de N amoniacal ($P < 0.05$) y de N dietario ($P < 0.10$), la concentración de N amoniacal ($P < 0.01$) y el área bajo pH 6 ($P < 0.05$); y aumentó el flujo de N

bacteriano ($P < 0.05$), la degradación de la PB ($P < 0.10$), la eficiencia de la síntesis de proteína microbiana ($P < 0.10$), la actividad amilolítica ($P < 0.05$) y los minutos hasta pH mínimo ($P < 0.05$).

Sólo se encontraron interacciones entre los dos factores principales en el flujo de N amoniacal ($P < 0.10$) y el area bajo pH 6 ($P < 0.05$), dónde la combinación CL y RD redujo ambos parámetros mientras que CL y LD los aumentaron.

Tabla 2. Efectos de la adición de levaduras y del tipo de almidón sobre el perfil de ácidos grasos volátiles, actividad enzimática, fluctuación de pH y población microbiana.

Ítems	TRATAMIENTOS ¹				EEM	P-VALOR		
	SL	CL	LD	RD		Lev	Alm	Alm*Lev
AGV								
Totales, mM	88.5	92.7	89.9	91.4	8.01	0.42	0.76	0.75
Ramificados ² , mM	0.70	0.84	1.09	0.45	0.20	0.20	<0.01	0.97
Acetato, mol/100mol	47.6	49.8	50.5	47.0	6.27	0.58	0.40	0.73
Propionato, mol/100mol	25.3	25.9	26.8	24.3	1.24	0.46	0.02	0.31
Butirato, mol/100mol	21.9	19.4	19.7	21.6	5.05	0.44	0.57	0.86
Acetato:Propionato	1.88	1.96	1.90	1.94	0.26	0.66	0.83	0.45
Actividad enzimática								
Amilolítica ³	86.2	112.1	116.0	82.2	9.35	0.05	0.02	0.45
Celulolítica ³	215.3	221.0	250.0	186.3	26.04	0.84	0.07	0.42
Proteolítica ⁴	142.8	147.1	149.4	140.5	8.96	0.66	0.38	0.90
Minutos hasta pH mínimo	109.0	133.6	130.3	109.3	9.77	0.02	0.04	0.16
Área bajo pH 6	5.58	3.93	1.97	8.46	2.56	0.06	<0.01	0.02
PCR, pg DNA/100ng DNA total								
S. bovis	335.2	190.6	12.26	513.6	153	0.63	0.17	0.67
M. elsdenii	1510	1210	147.1	2572	250.2	0.42	<0.01	0.82

1: Los tratamientos fueron: sin levaduras (SL), con levaduras (CL), almidón lentamente degradable (LD) y almidón rápidamente degradable (RD)

2: Los AGVs ramificados incluyen Isobutirato e Isovalerato

3: Actividad amilolítica y celulolítica expresadas como nmoles de glucosa $\text{ml}^{-1} \text{min}^{-1}$

4: Actividad proteolítica expresada como mggramos de proteína de soja hidrolizada $\text{ml}^{-1} \text{min}^{-1}$

CONCLUSIÓN

Los resultados muestran diferencias esperables en el perfil de fermentación microbiana ruminal entre los dos tipos de almidones utilizados. La adición de levaduras mejora el metabolismo del nitrógeno en el rumen, aumentando la eficacia en la síntesis de proteína bacteriana y reduciendo la caída del pH con dietas ricas en almidones rápidamente fermentables.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hoover, W. H., et al. 1976. J. Anim. Sci. 43:528.
 Nocek, J. E. 1997. J. Dairy Sci. 80:1005-1028.
 Bergen, W. G., y D. B. Bates. 1984. J. Anim. Sci. 58:1465-1483.
 Union Europea. 2003. Regulación (EC) No 1831/2003 del 22 Septiembre.
 NRC, 1996. Nat. Acad. Press. Washington, DC.
 Olubokun J. A., y W. M. Craig. 1990. J. Anim. Sci. 68:3360.
 Whitehouse, N. L., et al. 1994. J. Anim. Sci. 72:1335.