

## EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE CANTIDADES CRECIENTES DE BRÓCOLI EN DIETAS PARA OVINO LECHERO SOBRE SU FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO*

De Evan, T.<sup>1</sup>, Cevallos, A.C.<sup>1</sup>, Marcos, C.N.<sup>1</sup>, Ranilla, M.J.<sup>2</sup> y Carro, M.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dpto. Producción Agraria, E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España. <sup>2</sup> Dpto. Producción Animal, Universidad de León, 24071 León. Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC), Finca Marzanas s/n, 24346 Grulleros (León), España; tdeevan@ucm.es

### INTRODUCCIÓN

La producción anual de brócoli en España superó las 527.000 toneladas en el 2017, incrementándose así la producción un 10,2% respecto al año anterior (MAPA, 2018). Esto sitúa a España como el mayor productor de brócoli de Europa con un 28,5% de la producción anual (FAOSTAT, 2018). Las inflorescencias son la parte comercial y consumida del brócoli y representan tan solo el 5-35% del material vegetal, por lo que se genera un 65-95% de subproductos. Estos restos suponen una gran cantidad de toneladas y dan lugar a un fuerte impacto ambiental, lo que justifica la necesidad de buscar un aprovechamiento alternativo (Dominguez-Perles et al., 2012). Una posible opción es su utilización en alimentación animal, pero no existen datos de su valor nutritivo, por lo que el objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos de la inclusión de cantidades crecientes de brócoli en una dieta de ovino lechero, sobre su fermentación ruminal *in vitro*.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Para este estudio se utilizó una mezcla de muestras de brócoli obtenidas en diferentes supermercados locales y diferentes materias primas de uso habitual en la alimentación del ganado ovino lechero. Todas las materias primas fueron molidas a 1 mm para los análisis de su composición química (AOAC, 2005) y posterior formulación de las dietas experimentales. Con los resultados obtenidos se formularon 4 dietas (Tabla 1) con una relación heno de alfalfa:concentrado 40:60 y el mismo contenido en proteína bruta (PB; 16,1%) y fibra neutro detergente (FND; 31,5%).

**Tabla 1.** Ingredientes y composición química de la dieta control (sin brócoli) y las dietas experimentales con brócoli a diferentes niveles (8, 16 y 24% del concentrado).

Item	Control	Br8	Br16	Br24
<b>Ingredientes del concentrado (% materia fresca (MF))</b>				
Brócoli	-	8,0	16,0	24,0
Maíz	32,0	32,0	32,0	32,0
Cebada	30,0	30,0	30,0	30,0
Trigo	15,0	12,5	10,5	8,10
Harina de soja 46	14,0	10,5	7,5	3,9
Salvado de trigo	7,0	5,0	2,0	0,0
Otros <sup>1</sup>	2,0	2,0	2,0	2,0
<b>Composición química de la dieta (g/100g MS, excepto MS)<sup>2</sup></b>				
Materia seca (MS)	89,7	89,6	89,6	89,7
Materia orgánica (MO)	93,0	92,3	91,5	90,8
Proteína bruta (PB)	16,1	16,1	16,1	16,1
Fibra neutro detergente (FND)	31,5	31,6	31,6	31,7
Fibra ácido detergente (FAD)	15,9	16,3	16,6	17,0
Extracto etéreo (EE)	4,18	4,29	4,37	4,47

<sup>1</sup> Jabón cálcico (1%), carbonato cálcico (0,5%) y premezcla vitamínico-mineral (0,5%).

<sup>2</sup> Calculada a partir de la composición analizada en los ingredientes individuales.

El concentrado de la dieta control no contenía brócoli y en los concentrados de las 3 dietas experimentales se incluyeron cantidades crecientes de brócoli desecado: 8 (Br8), 16 (Br16) y 24% (Br24), sustituyendo parcialmente el trigo, la harina de soja 46 y el salvado de trigo. La composición química (en MS, excepto la MS) de la muestra de brócoli fue 89,9% de MS;

87,3% materia orgánica (MO); 34,3% PB; 27,0% FND; 17,8% fibra ácido detergente (FAD) y 6,7% extracto etéreo (EE).

Se realizaron dos incubaciones *in vitro* con líquido ruminal obtenido de cuatro ovejas adultas fistuladas en el rumen y alimentadas con heno de alfalfa y concentrado en proporción 60:40. En primer lugar se incubaron 400 mg de materia seca (MS) de cada dieta en viales de 120 ml, a los que se añadieron 40 ml de una mezcla del líquido ruminal de cada oveja y medio de cultivo (Goering y Van Soest, 1970) en relación 1:4 (vol/vol). Los viales se incubaron a 39°C y se midió la producción de gas a las 2, 4, 6, 9, 11, 14, 22, 26, 30, 34, 48, 58, 72, 96 y 120 horas. A la producción de gas en los viales se le restó la originada en el blanco correspondiente para corregir la producción de gas endógena. Los datos de producción de gas se ajustaron al modelo:  $Y = PPG (1 - e^{(-c(t - Lag)})$ ), en el que PPG es la producción potencial de gas,  $c$  es el ritmo fraccional de producción de gas,  $t$  el tiempo de medida y  $Lag$  el tiempo necesario para que comience la producción de gas. Además, se calculó el ritmo medio de producción de gas (RMPG) y la degradabilidad efectiva de la MS para un ritmo de paso del 6% (DEMS<sub>6</sub>). Posteriormente se realizó una incubación con el mismo procedimiento experimental, y al cabo de 24 horas, se midieron la producción de gas, CH<sub>4</sub>, ácidos grasos volátiles (AGV) y la concentración de NH<sub>3</sub>-N. Las concentraciones de CH<sub>4</sub>, y AGV se determinaron por cromatografía de gases y las concentraciones de NH<sub>3</sub>-N mediante un método colorimétrico según los procedimientos descritos por García-Martínez et al., 2005). Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza mixto (PROC MIXED, SAS), incluyendo la dieta como efecto fijo y el inóculo como efecto aleatorio. Adicionalmente, se estudiaron los efectos lineales y cuadráticos de la inclusión de brócoli en cantidades crecientes en las dietas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó un aumento lineal del RMPG (P=0,014) y una tendencia (P=0,061) a aumentar la DEMS<sub>6</sub> al aumentar la cantidad de brócoli en la dieta (Tabla 2). Además el aumento de la cantidad de brócoli en la dieta provocó un aumento cuadrático de la PPG (P=0,046), siendo más alta en la dieta Br16 que en la dieta control. La degradación del sustrato está relacionada directamente con la producción de gas (France et al., 2000), lo que indicaría que las dietas con brócoli se degradaron en mayor medida que la dieta control.

Por otro lado, se observó un aumento lineal en la producción total de ácidos grasos volátiles (AGV), en la proporción molar de acético y en la relación Ac/Pr (P<0,001) a medida que aumentó la cantidad de brócoli en la dieta. Sin embargo, las proporciones molares de propiónico y butírico sufrieron un descenso lineal (P<0,05). La concentración de NH<sub>3</sub>-N aumentó de forma lineal (P=0,002) al aumentar la cantidad de brócoli, lo que indicaría que la proteína del brócoli se degradó ampliamente en el rumen. Estos resultados concuerdan con los observados por Meneses et al. (2002), quienes encontraron que la digestibilidad de la proteína del brócoli es muy elevada (83%). No hubo diferencias significativas entre dietas en la producción de metano.

En resumen, la inclusión de cantidades crecientes de brócoli secado en una dieta para ovino lechero a niveles del 16 y 24% de la materia fresca (MF) del concentrado aumentó el ritmo de degradación de la dieta y la cantidad total de AGV producidos. Estos aumentos indicarían que el animal puede obtener una mayor cantidad de energía a partir de los AGV. La inclusión de brócoli al nivel de 8% apenas afectó a la fermentación ruminal *in vitro* de la dieta.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• AOAC. 2005. Official Method of Analysis. 18<sup>th</sup> Edition, AOAC, Washington DC. • Domínguez-Perles, et al. 2012. Grupo THM. Disponible en: <http://publicaciones.poscosecha.com/es/poscosecha/8-alimentacion-y-sostenibilidad-aprovechamiento-de-los-subproductos-del-brocoli-para-uso-industrial.html>. • FAOSTAT. 2018. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data>. • France, J. et al. 2000. Br. J. Nutr. 44: 143–50. • García-Martínez, R. et al. 2005. Br. J. Nutr. 94: 71-77 • Goering, H. K., Van Soest, P. J. 1970. Agriculture Handbook No. 379, Agricultural Research Service-USDA, Washington, D.C. • MAPA. 2018. Producciones hortalizas-frutas y Hortalizas. Disponible en (11/01/2019): [www.mapa.gob.es/estadistica/pags/anuario](http://www.mapa.gob.es/estadistica/pags/anuario). • Meneses, M. 2002. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. Murcia, España. pp: 187-190.

**Tabla 2.** Parámetros de producción de gas y fermentativos de la dieta control (sin brócoli) y las dietas experimentales con brócoli a diferentes niveles (8, 16 y 24% del concentrado).

Parámetros <sup>1</sup>	Control	Br8	Br16	Br24	EEM <sup>2</sup>	P=	
						Lineal	Cuadrático
<b>Producción de gas</b>							
PPG(ml/g MS)	280 <sup>a</sup>	285 <sup>ab</sup>	290 <sup>b</sup>	282 <sup>a</sup>	2,8	0,431	0,046
c (%/h)	3,90	3,90	4,00	4,00	0,000	0,119	0,823
Lag (h)	1,10	0,93	0,90	0,76	0,129	0,102	0,881
RMPG (ml/h)	7,40 <sup>a</sup>	7,57 <sup>ab</sup>	7,91 <sup>b</sup>	7,77 <sup>b</sup>	0,107	0,014	0,195
DEMS <sub>6</sub> (%)	36,1	35,7	36,0	36,9	0,29	0,061	0,075
<b>Fermentativos</b>							
Total AGV (μmol/vial)	2446 <sup>a</sup>	2489 <sup>a</sup>	2537 <sup>b</sup>	2572 <sup>b</sup>	13,4	<0,001	0,787
Proporciones molares (mol/100 mol)							
Acético (Ac)	61,5 <sup>a</sup>	62,0 <sup>ab</sup>	62,4 <sup>b</sup>	62,5 <sup>b</sup>	0,18	<0,001	0,300
Propiónico (Pr)	18,7 <sup>b</sup>	18,6 <sup>b</sup>	18,5 <sup>ab</sup>	18,2 <sup>a</sup>	0,10	0,004	0,338
Butírico	15,5 <sup>b</sup>	15,2 <sup>a</sup>	15,0 <sup>a</sup>	15,0 <sup>a</sup>	0,15	0,026	0,287
Otros AGV <sup>3</sup>	4,27 <sup>b</sup>	4,15 <sup>ab</sup>	4,13 <sup>a</sup>	4,27 <sup>b</sup>	0,043	0,996	0,028
Ac/Pr (mol/mol)	3,31 <sup>a</sup>	3,36 <sup>ab</sup>	3,41 <sup>bc</sup>	3,46 <sup>c</sup>	0,025	<0,001	0,777
NH <sub>3</sub> -N (mg/l)	274 <sup>a</sup>	282 <sup>ab</sup>	289 <sup>bc</sup>	296 <sup>c</sup>	3,8	0,002	0,865
CH <sub>4</sub> (ml)	14,9	15,0	15,6	14,9	0,31	0,742	0,238

<sup>1</sup> PPG: producción potencial de gas; c: ritmo fraccional de producción de gas; Lag: tiempo hasta que empieza la producción de gas; RMPG: ritmo medio de producción de gas; DEMS<sub>6</sub>: degradabilidad efectiva de la materia seca para un ritmo de paso del 6,0%. <sup>2</sup> EEM: error estándar de la media.

<sup>3</sup> Calculados como la suma de los ácidos isobutírico, isovalérico, valérico y caproico.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos AGL2016-75322-C2-1-R y AGL2016-75322-C2-2-R financiados por el MINECO.

### IN VITRO RUMINAL FERMENTATION OF DAIRY SHEEP DIETS INCLUDING INCREASING AMOUNTS OF BROCCOLI

**ABSTRACT:** The objective of this study was to assess the effects of replacing increasing proportions of cereals by broccoli in a dairy sheep diet on *in vitro* ruminal fermentation. Four concentrates were formulated: a control concentrate (without broccoli) and 3 concentrates that included dried broccoli at 8, 16 and 24% (dry matter (DM) basis) replacing wheat and soybean meal. All diets had 40:60 alfalfa hay:concentrate and the same content of crude protein (16.1%) and neutral detergent fiber (31.5%). Two *in vitro* incubations were carried out with sheep ruminal liquid to determine gas production kinetics and fermentative parameters. A linear increase in average gas production rate ( $P = 0.014$ ), a quadratic increase in the potential gas production ( $P = 0.046$ ) and a linear increase in total volatile fatty acids production, molar proportion of acetate and acetate/propionate ratio ( $P < 0.001$ ) were observed when the amount of broccoli augmented in the diets. In addition, a trend ( $P = 0.061$ ) to increased DM effective degradability was detected. Molar proportions of propionate and butyrate showed a linear decrease as the amount of broccoli increased in the diet ( $P < 0.05$ ). In conclusion, including 16 or 24% of dried broccoli in a concentrate for dairy sheep increased the ruminal degradation rate and the production of volatile fatty acids.

**Keywords:** Ruminal fermentation, gas production, dairy sheep, broccoli.