

## EFFECTO DE LA ADICIÓN DE UN HIDROLIZADO DE LEVADURA SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO* DE TRES FORRAJES TROPICALES

A. Díaz<sup>1</sup>, M.D. Carro<sup>1,2</sup>, C. Saro<sup>1,2</sup>, I. Mateos<sup>1</sup>, M.L. Tejido<sup>1,2</sup> y M.J. Ranilla<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, Universidad de León, 24071 León, España.

<sup>2</sup>IGM (CSIC-ULE), Finca Marzanas s/n. 24346 Grulleros, León, España  
mjrang@unileon.es

### INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han estudiado una gran variedad de aditivos para la alimentación de los animales rumiantes, entre los que destacan los antibióticos, ácidos orgánicos, extractos vegetales y enzimas. Sin embargo, el empleo de la mayoría de estos productos no es una alternativa viable en países como Cuba, debido a su elevado coste de producción. Por ello muchas investigaciones se encaminan al estudio de los aditivos microbianos y sus derivados. Según Pérez (2000), a partir de la hidrólisis enzimática de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* presente en el residuo de la destilación de alcohol de la caña de azúcar se puede obtener un compuesto que mostró efectos probióticos en aves, con buenos resultados en indicadores fisiológicos, inmunológicos y productivos. También Galindo Blanco (2010) observó un efecto estimulador de dicho hidrolizado en las poblaciones de microorganismos ruminales en un estudio *in vitro*. En este trabajo se analizó el efecto de la adición de un hidrolizado enzimático de *S. cerevisiae* sobre la fermentación ruminal *in vitro* de tres forrajes tropicales (*Pennisetum purpureum* clon Cuba CT-115, *Pennisetum clandestinum* y *Glyricidia sepium*). Estos forrajes se seleccionaron debido a su amplia utilización en la alimentación de los animales rumiantes en Cuba.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando un sistema de cultivos no renovados de microorganismos ruminales (CNRMR). Como sustrato de incubación se utilizaron 3 pastos tropicales (*Pennisetum purpureum* clon Cuba CT-115, *Pennisetum clandestinum* y *Glyricidia sepium*). La composición química de los diferentes sustratos se presenta en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Composición química (g.kg MS<sup>-1</sup>) de los 3 sustratos utilizados.

	Materia orgánica	Fibra neutro-detergente	Fibra ácido-detergente	Proteína bruta	Lignina
<i>P. purpureum</i>	866	712	390	49,5	54,2
<i>P. clandestinum</i>	891	660	288	154	55,4
<i>G. sepium</i>	918	441	250	248	137

Para la incubación se utilizaron botellas de vidrio de 120 mL de capacidad y en el interior de cada una se pesaron 500 mg de materia seca (MS) del sustrato correspondiente. Las dosis de hidrolizado de levadura *S. cerevisiae* evaluadas fueron 0  $\mu$ L (CON) y 200  $\mu$ L (HLEV). En cada botella se adicionaron 50 mL de una mezcla 1:4 (vol:vol) de fluido ruminal y medio de cultivo descrito por Goering y Van Soest (1970). El fluido ruminal se obtuvo de 4 ovejas fistuladas, que eran alimentadas con heno de alfalfa. La dosificación de la mezcla en las botellas se realizó en condiciones de anaerobiosis. Tras la dosificación, las botellas se cerraron herméticamente con un tapón de caucho y cápsulas de aluminio y se colocaron en un incubador a 39°C. Una vez transcurridas 24 horas de incubación, se midió la cantidad de gas producido en cada botella, se abrieron, se midió el pH de su contenido y se tomaron muestras para analizar la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y amoníaco. La incubación se repitió en cuatro días diferentes, para obtener cuatro réplicas por tratamiento.

Los resultados obtenidos se analizaron independientemente para cada forraje. Los datos se sometieron a análisis de varianza utilizando el procedimiento MIXED del SAS (SAS Inst, Cary, NC), en el que los factores analizados fueron la adición de hidrolizado y el día de

incubación. El nivel de significación estadística se estableció en  $P < 0,05$  y los valores de  $P$  entre 0,05 y 0,10 se consideraron como tendencia.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se observa en la Tabla 1. *P. clandestinum* y *G. sepium* presentan una mejor calidad que el *P. purpureum* clon Cuba CT-115, debido a su menor contenido en fibra neutro-detergente (FDN) y fibra ácido-detergente (FDA) y a su mayor contenido en proteína bruta (PB). En la Tabla 2 se observan los principales resultados obtenidos en las incubaciones in vitro. Cuando se incubaron los sustratos *P. clandestinum* y *G. sepium* se observaron mayores valores de producción de AGV totales y gas y concentración de amoníaco que en la incubación de *P. purpureum* clon Cuba CT-115, lo que se encuentra en estrecha relación con su composición química.

**Tabla 2.** Efecto de adición de 200  $\mu\text{L}$  de un hidrolizado de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (HLEV) sobre la producción de acético (ac), propiónico (prop), butírico (but), total de ácidos grasos volátiles (AGV), relación acético:propiónico (ac:pr), gas,  $\text{NH}_3\text{-N}$  y pH final en cultivos in vitro utilizando como sustrato *Pennisetum purpureum* clon Cuba CT-115, *Pennisetum clandestinum* y *Gliricidia sepium*.

Forraje y tratamiento	Ac ( $\mu\text{mol}$ )	Prop ( $\mu\text{mol}$ )	But ( $\mu\text{mol}$ )	AGV ( $\mu\text{mol}$ )	Ac:Pr (mol:mol)	Gas (mL)	$\text{NH}_3\text{-N}$ (mg/L)	pH
<i>P. purpureum</i> clon Cuba CT-115								
CON	1411	502	243	2321	2,81	19,00	338	6,91
(HLEV)	1595	529	292	2599	3,02	21,58	364	6,89
<sup>1</sup> EEM	13,8	5,8	6,3	14,7	0,046	0,405	4,5	0,004
P =	0,003	0,046	0,012	0,001	0,050	0,021	0,026	0,049
<i>P. clandestinum</i>								
CON	1706	618	238	2728	2,76	32,78	380	6,85
(HLEV)	1761	601	279	2825	2,94	32,70	394	6,81
<sup>1</sup> EEM	32,8	3,8	8,3	16,3	0,069	0,438	3,5	0,009
P =	0,322	0,054	0,041	0,024	0,172	0,911	0,069	0,080
<i>G. sepium</i>								
CON	2067	728	264	3255	2,85	47,08	401	6,76
(HLEV)	2271	779	309	3571	2,92	46,08	412	6,74
<sup>1</sup> EEM	32,1	8,6	6,1	49,6	0,020	0,270	15,2	0,007
P =	0,021	0,025	0,014	0,020	0,074	0,079	0,644	0,072

<sup>1</sup>EEM: error estándar de la media

Los efectos del HLVE variaron en función del forraje incubado, y *P. purpureum* clon Cuba CT-115 fue el forraje con el que se detectaron cambios más marcados en la fermentación ruminal. La adición del HLVE aumentó ( $P=0,001$  a  $0,050$ ) la producción total e individual de los AGV y la relación acético:propiónico. En el caso de *G. sepium* se observaron cambios similares, con la excepción de que el aumento en la relación acético:propiónico no llegó a alcanzar el nivel de significación estadística ( $P=0,074$ ). Por el contrario, al utilizar como sustrato *P. clandestinum* sólo se vio estimulada la producción de AGV totales ( $P=0,024$ ) y de ácido butírico ( $P=0,041$ ), con una tendencia ( $P=0,054$ ) a disminuir la producción de ácido propiónico. Los cambios en las producciones y concentraciones de AGV que se han observado en estudios in vitro cuando se incluyen levaduras del género *S. cerevisiae* y sus derivados son variables, aunque en varios estudios se han observado aumentos en la producción de AGV (Mutsvangwa *et al.*, 1992; Miller-Webster *et al.*, 2002). Mutsvangwa *et al.* (1992) observaron aumentos en la producción de AGV y en la proporción de acetato, mientras que Newbold (1990) encontró un aumento de la proporción de ácido propiónico a

expensas del ácido acético. Estos resultados variables pueden deberse a los diferentes tipos de cultivos de *S. cerevisiae* utilizados, así como a los diferentes sustratos incubados.

En cuanto a la producción de gas, se encontró un aumento ( $P=0,021$ ) de la misma al utilizar *P. purpureum* clon Cuba CT-115 como sustrato, que se corresponde con lo observado en la producción de AGV. En el caso de *P. clandestinum* no se observó un efecto significativo ( $P=0,644$ ) del HLEV sobre la producción de gas, y al utilizar *G. sepium* como sustrato se observó una tendencia ( $P=0,069$ ) a una mayor producción. El pH final de los cultivos se mantuvo en valores cercanos a la neutralidad y sólo disminuyó ( $P=0,049$ ) con la adición de HLEV cuando se incubó *P. purpureum* clon Cuba CT-115.

La concentración de amoníaco fue mayor ( $P=0,026$ ) en los cultivos que recibieron HLEV cuando se utilizó como sustrato de fermentación *P. purpureum* clon Cuba CT-115, mientras que con el sustrato *P. clandestinum* se observó una tendencia ( $P=0,069$ ) a mayores concentraciones y no se observó efecto ( $P=0,644$ ) para *G. sepium*. En todos los casos, las concentraciones de amoníaco fueron superiores a 200 mg  $\text{NH}_3\text{-N}$  / L, nivel mínimo indicado por Leng (1991) para no limitar el crecimiento microbiano.

A la vista de los resultados obtenidos se concluye que el hidrolizado enzimático de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, a la dosis utilizada en este estudio, es capaz de estimular la fermentación ruminal in vitro de los tres forrajes utilizados, pero los efectos fueron más marcados para *Pennisetum purpureum* clon Cuba CT-115. Si estos resultados se confirman en estudios in vivo, la utilización de HLEV podría mejorar la utilización digestiva de estos forrajes.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Galindo Blanco, J., A. Díaz, N. González, A. Sosa, Y. Marrero, A.I. Aldana, O. Moreira, R. Bocourt, V. Torres, L. Sarduy y A. Noda. 2010. Rev. Cub. Cienc. Agric. 44: 281- 286.
- Goering, H. K. and Van Soest, P. J. 1970. Agriculture Handbook No. 379. Agriculture Research Service, United States Department of Agriculture. Washington, DC, USA.
- Leng, R. A. 1991. FAO Animal Production and Health paper 90. Roma, Italia: 146pp.
- Miller-Webster, T., Hoover, W., Holt, M. and Nocek, J. E. 2002. J. Dairy Sci. 85, 2009-2014.
- Mutsvangwa, T., Edwards, I. E., Topps, J. H. And Paterson, G. F. M. 1992. Br Society Anim. Prod. 55:35-40.
- Newbold, C. J. 1990. 51st Minnesota Nutrition Conference. p 102-118.
- Pérez, M. 2000. Tesis Doctoral. Universidad Agraria de la Habana. Cuba.

**Agradecimientos:** Este trabajo forma parte de los Proyectos AGL2008-04707-C02-02, financiado por el MICINN y el PCI-Iberoamérica A/4951/06, financiado por MAE-AECID.

#### EFFECT OF A YEAST HYDROLYSATE ON *IN VITRO* RUMINAL FERMENTATION OF THREE TROPICAL FORAGES

**ABSTRACT:** Batch cultures of rumen microorganisms were used to study the effects of a yeast hydrolysate from *Saccharomyces cerevisiae* on the *in vitro* fermentation of three tropical forages (*Pennisetum purpureum* clon Cuba CT-115, *P. clandestinum* and *Gliricidia sepium*). Cultures received either 0 (CON) or 200  $\mu\text{L}$  of the yeast hydrolysate (HLEV) and were incubated at 39°C for 24 h. The addition of HLEV increased ( $P=0.001$  to 0.050) production of total volatile fatty acid (AGV) and all individual AGV, as well as acetate:propionate ratio, for *P. purpureum* clon Cuba CT-115. An increase ( $P=0.014$  to 0.025) in total and individual AGV was observed for *G. sepium*, and for *P. clandestinum* was detected only an increase in total AGV and butyrate ( $P=0.041$  and 0.024, respectively). Gas production,  $\text{NH}_3\text{-N}$  concentration and final pH were not affected ( $P>0.05$ ) by HLEV when *P. clandestinum* and *G. sepium* were used as substrates. On the contrary, the addition of HLEV to cultures with *P. purpureum* clon Cuba CT-115 increased gas production ( $P=0.021$ ) and  $\text{NH}_3\text{-N}$  concentrations ( $P=0.026$ ), and decreased final pH ( $P=0.049$ ), thus indicating a stimulation of ruminal fermentation. If these results are confirmed in vivo, HLEV could be used as a feed additive in practical feeding of ruminants to improve digestive utilization of tropical forages.

**Keywords:** yeast hydrolysate, in vitro rumen fermentation, tropical forages