

## **INFLUENCIA DE LA PROTECCIÓN DE LA PROTEÍNA DE GIRASOL (SEMILLA Y HARINA) EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS BACTERIAS RUMINALES**

Haro, A.N., de Evan, T., Carro, M.D. y González, J.

Departamento de Producción Agraria, ETSIAAB, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España; javier.gonzalez @upm.es

### **INTRODUCCION**

Las bacterias adheridas a las partículas sólidas de la digesta (BAS) representan la mayor proporción de la biomasa bacteriana ruminal, mientras que las presentes en el líquido ruminal (BAL) son minoritarias (Rodríguez et al., 2003). Pese a ello, las estimaciones de la síntesis de proteína microbiana en el rumen que utilizan los sistemas actuales de alimentación de rumiantes están basadas en la composición de la fracción BAL, a pesar de que pueden existir diferencias importantes en la composición química entre ambas poblaciones y en las concentraciones de los marcadores utilizados para estimar la síntesis microbiana. A partir de los resultados de diferentes experimentos desarrollados con idéntica metodología, González et al. (2012) establecieron una estrecha correlación lineal para el enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  de ambas poblaciones bacterianas dentro de un rango ligeramente inferior a 0,3 átomos % en las BAL. En un estudio reciente, se utilizó una mayor dosis de infusión de  $^{15}\text{N}$  para ampliar el rango de enriquecimiento indicado con el objetivo de testar si se mantenía esta relación lineal. En este trabajo se analizan las diferencias en la composición química de BAS y BAL y la posible influencia de la dieta sobre las mismas.

### **MATERIAL Y METODOS**

Para el estudio se utilizaron cuatro ovejas de raza Lacaune ( $79,5 \pm 2,98$  kg) provistas de una cánula ruminal permanente, que recibieron dos dietas experimentales en un diseño cruzado. Cada período experimental tuvo una duración de 22 días, de los cuales los 10 primeros fueron de adaptación a las dietas experimentales y el resto de toma de muestras. Las dos dietas estaban compuestas de heno de avena de baja calidad (4,79 y 57,9% de proteína bruta (PB) y fibra neutro detergente, respectivamente; en materia seca (MS)) y pienso concentrado en relación 40:60. Las dietas se suministraron, utilizando distribuidores automáticos, en 6 comidas diarias iguales a un nivel de 40 g de materia fresca/kg peso vivo<sup>0.75</sup>. Las dietas se diferenciaron únicamente en que los concentrados contenían harina y semilla de girasol protegidas (dieta PR) o sin proteger (dieta CON). La protección de la harina y semilla de girasol se realizó pulverizando sobre los alimentos una solución de ácido málico 2N (400 ml/kg) y secándolos posteriormente en una estufa a 150°C durante 2 h (más el calor residual tras apagar la estufa). Los ingredientes de los dos concentrados fueron cebada (26,4%), maíz (26,3%), trigo (19,6%), harina de girasol (10,9%), semilla de girasol (8,9%), harina de soja (5,0%), carbonato cálcico (2,24%), sal (0,48%) y corrector vitamínico-mineral (0,2%). Los concentrados PR y CON contenían (en base a MS) 15,6 y 15,3% de PB y 5,61 y 5,05% de grasa y en los dos el 35% de la PB y el 66% de la grasa procedían del girasol. A partir del día 7 de cada período, se realizó una infusión continua (200 ml) a través de la cánula ruminal de una solución de  $^{15}\text{N}$  que aportó diariamente 50 mg de  $^{15}\text{N}$  a cada oveja, con la finalidad de marcar las bacterias ruminales. Los días 21 y 22 de cada período se realizó un vaciado ruminal completo (una oveja de cada tratamiento cada día) y se obtuvo una muestra (1 kg) representativa del contenido ruminal que se utilizó para el aislamiento de las fracciones BAS y BAL mediante las técnicas descritas por Rodríguez et al. (2000). Los pellets bacterianos obtenidos se liofilizaron y se analizó su composición química mediante los métodos descritos por estos autores.

Los resultados se analizaron con el PROC MIXED del SAS mediante análisis de varianza usando un modelo mixto en el que los efectos de la dieta, la fracción bacteriana, el período y la interacción dieta x fracción bacteriana se consideraron fijos y el efecto de la oveja se consideró aleatorio.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se muestra en la Tabla 1, no se observaron interacciones dieta x fracción bacteriana, con la excepción de una tendencia en el contenido en lípidos ( $P = 0,064$ ). Las bacterias aisladas de animales que recibían la dieta CON mostraron un mayor contenido en materia orgánica (MO) y lípidos ( $P = 0,011$  y  $< 0,001$ , respectivamente) y menor contenido en N ( $P = 0,037$ ) que las aisladas con la dieta PR. Las diferencias en el contenido en MO y lípidos estuvieron relacionadas, como muestran los similares valores de MO delipidada para las dos fracciones bacterianas y tendrían su origen en la reducción del aporte de lípidos (10%) con la dieta PR (5,61 y 5,05% de grasa en las dietas CON y PR, respectivamente). Además, las bacterias tuvieron un menor enriquecimiento cuando los animales recibieron la dieta CON que cuando ingerían la dieta PR (0,277 vs. 0,311 átomos %, de media), indicando una mayor incorporación de  $^{15}\text{NH}_3\text{-N}$  con la dieta PR, asociable a una menor producción de  $\text{NH}_3\text{-N}$  debido al tratamiento protector de la proteína; así las concentraciones medias de  $\text{NH}_3\text{-N}$  medidas en las primeras 4 horas tras la ingestión fueron un 6,4% inferiores en la dieta PR (79,3 y 74,2 mg/l para las dietas CON y PR, respectivamente;  $P = 0,228$ ).

**Tabla 1.** Influencia de la dieta y la fracción bacteriana (FB) en la composición química de bacterias ruminales aisladas de la fase líquida (BAL) y sólida (BAS) del rumen de ovejas

Item <sup>1</sup>	FB	Dieta <sup>2</sup>			P =		
		CON	PR	eem <sup>3</sup>	Dieta	FB	Dieta x FB
Materia orgánica (MO)	BAL	80,1	76,6	0,98	0,011	0,121	0,797
	BAS	81,6	78,6				
Lípidos	BAL	17,9	12,4	0,65	<0,001	0,002	0,064
	BAS	19,5	16,8				
MO delipidada	BAL	62,2	64,2	1,34	0,542	0,371	0,418
	BAS	62,1	61,8				
N	BAL	6,26	6,61	0,194	0,037	0,459	0,496
	BAS	5,97	6,60				
N (% MO)	BAL	7,83	8,61	0,163	<0,001	0,059	0,408
	BAS	7,33	8,39				
$^{15}\text{N}$ (% átomos exceso)	BAL	0,295	0,326	0,0085	0,005	0,004	0,852
	BAS	0,259	0,294				

<sup>1</sup> Datos expresados en % de la MS, excepto cuando se indica otra unidad.

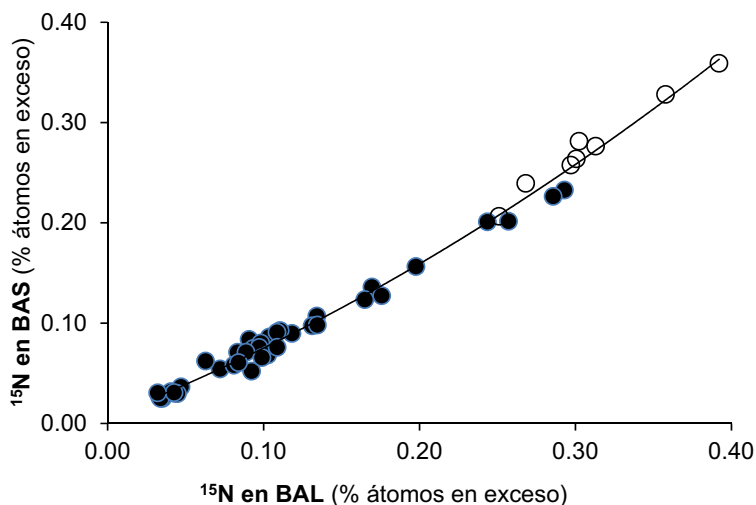
<sup>2</sup> El concentrado de la dieta PR contenía harina y semilla de girasol protegidas frente a la degradación ruminal mediante un tratamiento de ácido málico y calor. Las dos dietas tenían una relación 40:60 forraje:concentrado.

<sup>3</sup> Error estándar de la media.

De acuerdo con resultados anteriores (Ramos et al., 2009; González et al., 2012), la fracción BAL tuvo un menor contenido en lípidos y un mayor enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  que la fracción BAS, sin que existieran diferencias en el contenido en N. Sin embargo, al expresar el contenido en N como proporción de la MO hubo una tendencia ( $P = 0,059$ ) a una mayor concentración en las BAL, lo que coincide con la mayor maquinaria (ácidos nucleicos, enzimas,...) exigida por su mayor tasa de duplicación debido a que la tasa de tránsito de la fase líquida es considerablemente mayor que la de la fase sólida. Los enriquecimientos en  $^{15}\text{N}$  de las BAS y BAL no se ajustaron bien a la relación lineal establecida entre ambos valores por González et al. (2012) para enriquecimientos de BAL inferiores a 0,3 % átomos en exceso (Figura 1), sino que existió una relación lineal y cuadrática cuando se incluyeron todos los valores disponibles:  $^{15}\text{N-SAB} = 0,006 (0,0038) + 0,612 (0,0527) ^{15}\text{N-LAB} + 0,759 (0,1378) ^{15}\text{N-LAB}^2$  ( $R^2 = 0,992$ ;  $n = 48$ ; raíz cuadrada media del error = 0.00826).

En resumen, la inclusión de proteína de girasol protegida con ácido málico y calor en la dieta de ovejas dio lugar a un mayor contenido en N de las bacterias, lo que unido a la

protección de la proteína sugiere una mejor utilización proteica de la dieta. Por otra parte, se observaron las diferencias habituales en la composición química de LAB y SAB, debiéndose limitar el enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  en las LAB a valores menores de 0,3% átomos en exceso si se pretende mantener la linealidad entre los enriquecimientos de ambas poblaciones.



**Figura 1.** Relación entre el enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  de las bacterias asociadas a las fases líquida ( $^{15}\text{N}$ -BAL) y sólida ( $^{15}\text{N}$ -BAS). Los círculos negros corresponden a trabajos anteriores del grupo (González et al., 2012) y los círculos blancos al presente estudio.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

• Ramos S., Tejido M.L., Martínez M.E., Ranilla M.J., Carro M.D. 2009. *J. Anim. Sci.* 87:2924-2934. • Rodríguez C.A., González J., Alvir M.R., Redondo R., Cajarville C. 2003. *Br. J. Nutr.* 89: 369-376. • Rodríguez C.A., González J., Alvir M.R., Repetto J.L., Centeno C., Lamrani F. 2003. *Br. J. Nutr.* 84: 97-103. • González J., Arroyo J.M., Ouarti M, Guevara-González J., Rodríguez C.A., Alvir M.R., Moya V.J., Piquer O. 2012. *Animal.* 6:468-475.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto AGL2012-31064 (financiado por el MINECO).

#### INFLUENCE OF THE PROTECTION OF THE SUNFLOWER PROTEIN (SEED AND MEAL) IN THE CHEMICAL COMPOSITION OF RUMINAL BACTERIA

**ABSTRACT:** Four rumen-cannulated sheep were fed two diets of oat hay and concentrate (40:60 on fresh matter) at 40 g/kg live weight<sup>0.75</sup>. The diets included sunflower seed and meal either untreated (CON) or protected (PR) against ruminal degradation by a malic acid-heat treatment. Ruminal contents were sampled and chemical composition of bacteria associated to liquid (BAL) and solid (BAS) digesta was analyzed. BAL showed less lipids and greater  $^{15}\text{N}$  enrichment than BAS. Bacterial fractions did not differ in N content, but BAL tended ( $P = 0,059$ ) to have greater N content than BAS when N was expressed on organic matter (OM) basis. Bacteria from CON-fed animals had greater ( $P \leq 0,037$ ) OM and lipids content and  $^{15}\text{N}$  enrichment, but lower N content than those from PR-fed animals. Values of  $^{15}\text{N}$  enrichment in BAS and BAL greater than 0.3% atoms in excess did not adjust well to the linear relationship between both fractions observed in previous studies.

**Keywords:** sunflower protein, malic acid-heat treatment, rumen bacteria, chemical composition,  $^{15}\text{N}/\text{N}$  ratio