

USO DEL "RUMEN ARTIFICIAL" EN EXPERIENCIAS DE DIGESTIBILIDAD

Por:

HUGO LEIVA SAMPER, D. V. M.*

P. HAVSKOV SØRENSEN, D. V. M.**

INTRODUCCION

El propósito de este trabajo es explicar los principios y las técnicas sobre investigación de la digestibilidad "In Vitro" y comentar los resultados obtenidos en un ensayo que ha sido hecho para estudiar la digestibilidad del "Forraje trébol" que fue fertilizado con cantidades crecientes de nitrógeno.

La experimentación "In vitro" puede ser llevada a cabo en una variedad de diferentes maneras, y las técnicas pueden ser divididas en los dos siguientes grupos:

a) Uso del "Rumen artificial impermeable" en el cual se ha hecho algún ensayo para estimular las condiciones de pH, anaerobiosis, etc., dentro del rumen natural.

En resumen el método consiste en usar un recipiente de vidrio que contenga una solución de sal mineral de composición aproximada a la de la saliva del rumiante, a la cual se agrega una apropiada inoculación de licor del rumen, cualquier nutriente necesario y el sustrato del metabolismo del cual la información es derivada. El frasco y su contenido son mantenidos a 39-40°C, y una corriente uniforme pero lenta de gas, dióxido de carbono (CO₂) es burbujado a través, el pH se ajusta a intervalos con carbonato

de sodio (Na₂CO₃) para mantenerlo entre los límites 6,5 y 6,9. Varias fórmulas para la mezcla de sal mineral se han dado (Louw y Col. 1949 y McDougalls, 1948).

b) Uso de "bolsas semi-permeables" para simular la parte que la difusión juega en la actividad del rumen en vivo. Un concepto similar, el de remover los productos finales del metabolismo que son posiblemente inhibitorios a la actividad bacteriana en un sistema de rumen artificial, fue la base para la introducción de la membrana dializante semipermeable a las técnicas "In vitro".

Un aparato fue desarrollado por Louw y Col. (1949). Los contenidos de la bolsa que se suspende en un baño caliente el medio salino en una concentración apropiada y ajustado al mismo pH de la mezcla de fermentación, son gaseados con N₂ que contiene 5% CO₂ y el "Run" es con-

* Investigador y colaborador del Departamento de la Nutrición y Alimentación de los Animales Domésticos, Real Colegio de Veterinaria y Agricultura de Dinamarca, Copenhague.

** Director del mismo Departamento.

ducido a 39°C y pH 6.8 por 24 horas. Los datos sobre digestibilidad obtenidos fueron descritos por Barnett and Reid (1961).

Desde un punto de vista práctico, el rumen artificial da una significativa contribución a la nutrición de los rumiantes y si uno juzga su eficiencia y ventajas sobre la base de la actividad, parece que muchas de las funciones microbiales mayores típicas de la actividad del rumen pueden ser reproducidas. Entre estas actividades están: digestión de la celulosa y hemicelulosa, la asimilación de nitrógeno no proteínico, la síntesis de vitaminas B incluyendo vitamina B₁₂, la síntesis de proteína microbial y la alteración en el medio nutriente usado para criar estos organismos en el rumen artificial, han sido tomadas como una indicación de que los procesos totales normales afectados en el rumen estaban siendo duplicados "In vitro".

Además, parece que los datos más valiosos según fueron determinados en el rumen artificial son: las digestibilidades de los forrajes en celulosa, de materia seca, nitrógeno y la cantidad de ácidos grasos volátiles producidos.

En general, se está progresando en el entendimiento del funcionamiento del rumen y de los procesos digestivos afectados por la flora a través del uso de la técnica del rumen artificial.

TECNICA

El principio de método usado en la experimentación es adaptado de la técnica de la digestibilidad in vitro de hierba descrita por Dobrinka and Havskov Sørensen (1964), basada en el principio de Davey y Cols. (1960), que asemeja la naturaleza de dos etapas de los procesos digestivos en el animal rumiante. La hier-

ba es digerida primero con microorganismos anaerobios tomados del rumen de una vaca normal con una sonda de estómago, y luego con pepsinas ácidas, propuestas primero por Tilley and Terry (1961). Durante la primera etapa, los carbohidratos estructurales (celulosa y hemicelulosa) son digeridos y convertidos en productos solubles por medio de enzimas de los microorganismos del rumen y los productos iniciales (azúcares simples) se convierten en ácidos grasos volátiles, metano, CO₂, etc. La mayoría de los componentes digeribles solubles de la hierba son también reducidos durante esta etapa. Sin embargo, solo una proporción de la proteína es hecha soluble por la acción de los microorganismos del rumen, y la segunda etapa del proceso de digestión, tratamiento con (enzima péptica proleolítica) es requerido para la conversión de proteína a fracciones hidrosolubles.

MATERIALES

1. Hierba secada a 100°C y finalmente molida.
2. Licor de rumen.
3. Phosphato-bicarbonato Buffer o "Saliva Artificial".

Una solución permanente es preparada disolviendo: 95.0 g. Na₂PO₄. 12 H₂O, 100 g. NaHCO₃ y 5.0 g. ClNa, 50 g. KCl, 1.0 MgCl₂. 6 H₂O en agua y completando hasta 5 litros.

4. Solución Dializante, preparada para 5 litros: NaCl 40.0 g. KCl 1.0 g., NaH₂PO₄.H₂O. 0,5 g., MgCl₂. 6 H₂O - 1.0 g. y NaHCO₃. 5.0 g. 5. Solución Péptica. 3.3 g. de 1:30.000 Pepsina concentrada, es disuelta en 550 ml. de agua, más 0,1 n HCl.

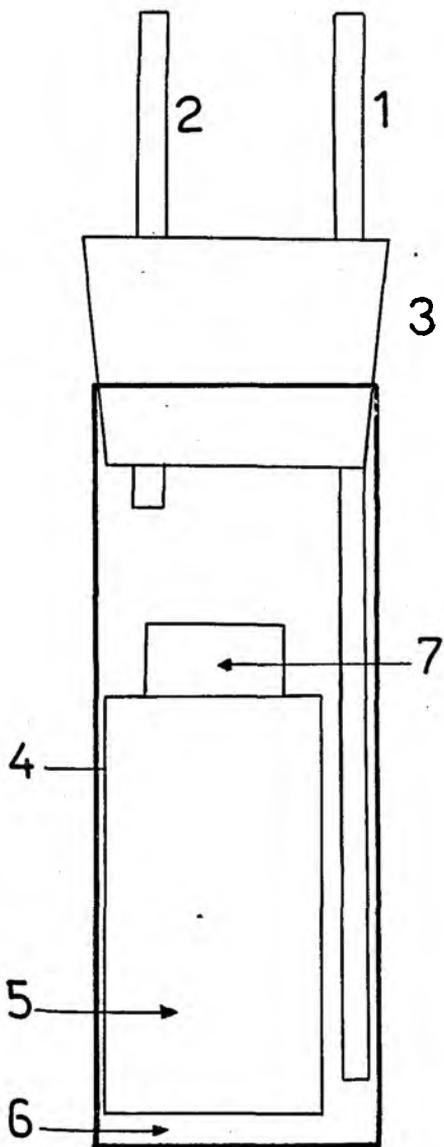


Fig. 2

1. Tubo de entrada y de salida de la solución mineral.
2. Tubo de escape de la mezcla gaseosa.
3. Tapón de caucho.
4. Membrana de celofán-diálisis.
5. 0.500 g. del pasto problema mas 10 ml. de líquido del rumen.
6. Solución del complejo mineral y productos de difusión del licor del rumen.
7. Tapa de la membrana de celofán.

El equipo se compone de:

1. Tubos de centrífuga de 3.9×10.0 cm. han sido usados. (Ver figura).

2. Una bolsa dializadora de celofán, 12×4 cm.

3. Una centrífuga (la mayoría del material insoluble en agua en muestras de hierbas es centrifugado después de 15 min. a 1.800 g.).

4. Medidor de pH.

5. Baño de agua a temperatura constante graduado a 39°C .

6. Un cilindro de N_2 .

RESULTADOS

El uso del método es aquí ejemplificado por los resultados de algunos experimentos sobre digestibilidad llevados a cabo en el Departamento de Nutrición Animal y Alimentación, por Schmidt (1966), utilizando el trébol de pastizales que fueron fertilizados con cantidades crecientes de nitrógeno. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

TABLA 1. — "IN VITRO" DIGESTIBILIDAD DEL TREBOL EN ESTUDIO

C O R T E S	Proteína % de materia seca	Fibra bruta % materia seca	Coeficiente de digestibilidad		
			Proteína	Fibra bruta	Materia orgánica
1er. Corte:					
0 kg. N. por ha.	15.1	22.0	68	51	62
40 kg. N. por ha.	16.2	22.4	73	53	63
80 kg. N. por ha.	17.6	21.5	76	56	61
120 kg. N. por ha.	20.1	21.6	80	57	65
240 kg. N. por ha.	23.7	21.4	83	47	65
2º Corte:					
0 kg. N. por ha.	11.5	27.7	63	33	42
40 kg. N. por ha.	11.2	29.1	60	36	43
80 kg. N. por ha.	14.0	26.4	68	32	44
120 kg. N. por ha.	13.2	27.4	68	37	46
240 kg. N. por ha.	14.8	25.8	71	41	47

DISCUSION

Los experimentos también incluían la determinación de ácidos grasos volátiles, mostrando una producción promedia de 3.4 maeqv/g. materia orgánica seca para primer corte y 2.4 maeqv/g. para el segundo corte. Por supuesto, antes de la

conclusión, los resultados deben ser confirmados por medio de experimentos con rumiantes. Sin embargo, los resultados demuestran la validez del método como un instrumento fácil y rápido para hacer experimentos pilotos.

LITTERATURE:

- BARNETT, A. S. G. y REI, R. L. *Reactions in the rumen*. Edward Arnold Publishers Ltd. (1961).
- DAVEY, L. A., SHEESEMAN, G. I. and BRIGGS, C. A. (1960): *J. Agric. Sci.* 55, (1955).
- DOBRINKA, D. and SØRENSEN, P. H. (1964): *Sterility Research Institute, The Royal Vet. and Agric. College of Denmark*, 155.
- Louw, J. G. (1949): *Science*, 110, 478.
- McDOUGALL, E. I. (1948): *Biochem. J.*, 43, 99.
- ORVILLE G. BENTLEY. (1959): *Oklahoma Conference Radio Isotopes in Agriculture*, 181.
- SCHMIDT, P. E. (1966): *Digestive Research on grass. Beretning om Faellesforsøg*, 187.
- TILLEY, J. M. A., DERIAZ, R. E., and TERRY, R. A. (1961): *PROC. 8th Intern. Grassl. Congress*, 533.