

Aspectos básicos del metabolismo ruminal del nitrógeno

CASTRILLO C., BALCELLS J.

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL Y CIENCIA DE LOS ALIMENTOS.

Facultad de Veterinaria, Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza. E-mail ccastril@posta.unizar.es

Introducción

En los rumiantes, la mayor parte de los componentes orgánicos de la dieta son degradados y fermentados en el retículo-rumen, lugar en el que se desarrolla una amplia población microbiana, con predominio de bacterias pero con participación también de protozoos y hongos. Estos microorganismos poseen un dispositivo enzimático capaz de degradar los carbohidratos de reserva (almidón y azúcares) y estructurales integrados en la pared celular de la planta (celulosa, hemicelulosas y pectinas), así como las proteínas y los componentes nitrogenados no proteicos de la dieta.

Los productos finales de la fermentación consisten fundamentalmente en ácidos grasos volátiles, metano, dióxido de carbono y amoníaco (figura 1). Los ácidos grasos volátiles (mayoritariamente acético, propiónico y butírico) son absorbidos en su mayor parte a través de la pared del rumen y constituyen la principal fuente de energía para el animal hospedador. El metano es eliminado por eructación y representa una pérdida neta de energía inherente a los procesos de fermentación, a la que ha de sumarse el calor que generan los mismos. Una parte del amoníaco es reutilizada por los microorganismos ruminales para la síntesis de su propia proteína celular y otra parte es absorbida, mayo-

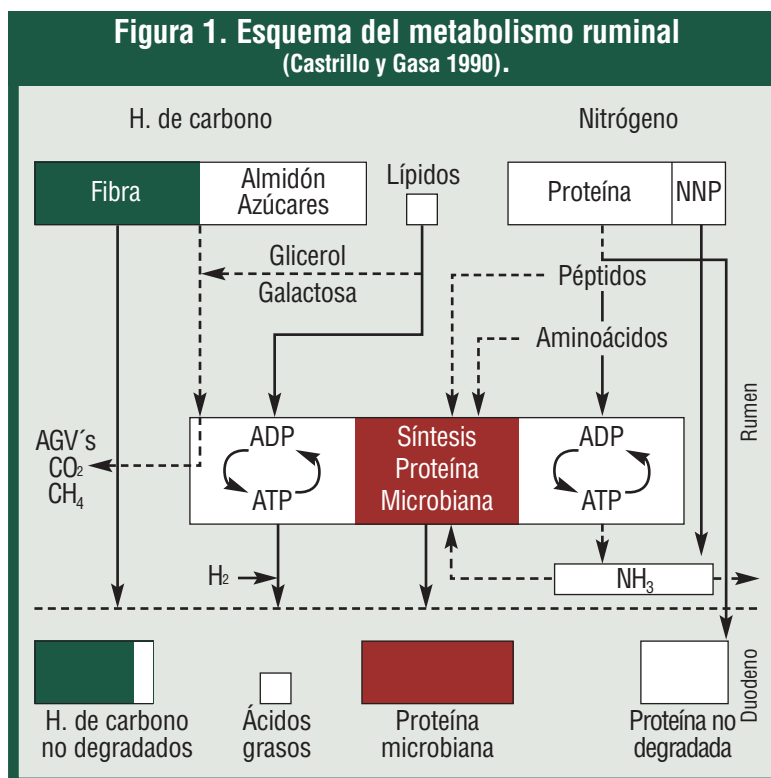
ritariamente en el rumen, pasando por circulación entero-hepática a hígado, donde es transformado en urea. Ésta es en parte eliminada por orina y en parte reciclada de nuevo al aparato digestivo, por difusión o a través de saliva.

Los lípidos de la dieta, en su mayor parte triglicéridos y galactolípidos, son hidrolizados a glicerol, galactosa y ácidos grasos. Los primeros son fermentados, en tanto que los ácidos grasos pasan sin fermentar a omaso, si bien los insaturados son masivamente hidrogenados en el rumen.

A partir de estos procesos de degradación los microorganismos obtienen energía en forma de ATP, que utilizan para sus funciones de mantenimiento y crecimiento celular. La mayor parte de la energía procede de la fermentación de los hidratos de carbono, siendo escasa la que consiguen a partir de la proteína y mínima la obtenida de las grasas, debido a que solamente es fermentada la parte hidrocarbonada. Por desarrollarse en anaerobiosis la oxidación de la materia orgánica es incompleta, por lo que los microorganismos sólo pueden captar del orden del 10% de la energía del sustrato. En estas condiciones, la disponibilidad de sustratos fermentables es el principal factor determinante del crecimiento microbiano, siempre que el aporte de nitrógeno y otros metabolitos (azufre, fósforo, niacina...) no lo sean.

Ventajas y desventajas de la fermentación ruminal

En el cuadro 1 se resumen las ventajas y desventajas de los procesos de



fermentación ruminal, desde el punto de vista de la digestión de los hidratos de carbono y eficiencia de utilización de la energía de los productos de la fermentación, y de la digestión y metabolismo de la proteína de la dieta. Considerando ambos aspectos, se puede concluir que la fermentación ruminal permite sacar el mayor beneficio de las dietas de elevado contenido en pared celular y bajo contenido en proteína verdadera, esto es, en condiciones de bajo nivel de producción, en tanto que ofrece desventajas, tanto desde el punto de vista del metabolismo energético como proteico, cuando se utilizan dietas de elevada concentración energética y protei-

ca para atender a niveles de producción elevados.

Flujo de proteína al duodeno: contribución de la proteína microbiana al total de necesidades proteicas del animal hospedador

Como muestra la *figura 1*, el flujo de proteína a duodeno esta constituido fundamentalmente por proteína microbiana y proteína del alimento que no ha sido degradada en el rumen, ade-

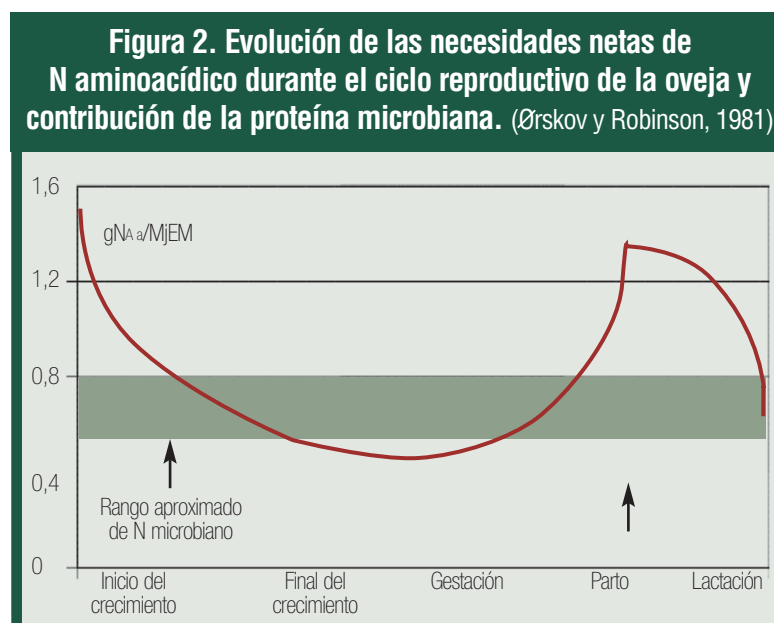
más de una fracción pequeña y bastante constante (32 mg de N/kg de peso vivo) de proteína de origen endógeno [Orskov y Robinson, 1981].

La contribución de la proteína microbiana al flujo total de nitrógeno que llega a duodeno varía con las características de la dieta, fundamentalmente con su contenido en proteína no degradable, pero generalmente representa más del 50% del total [Pérez *et al.*, 1997]. Por otra parte, la contribución de la proteína microbiana al total de las necesidades del hospedador depende de la fase fisiológica y del nivel de producción. La *figura 2* muestra que la proteína microbiana puede ser suficiente para satisfacer las necesidades proteicas del animal cuando éste se encuentra en mantenimiento e incluso durante las últimas fases del crecimiento o al inicio de la gestación (suponiendo un plano de alimentación suficiente para cubrir las necesidades energéticas). Por consiguiente, en estas fases del ciclo biológico de menores demandas, es suficiente con atender a las necesidades en nitrógeno de los microorganismos del rumen para que queden satisfechas las necesidades en proteína de la oveja. Para cubrir las necesidades en nitrógeno de los microorganismos del rumen, una dieta convencional con un contenido energético entre 8 y 10 MJ EM/kg MS (*e.g.* dietas constituidas por un heno de gramíneas de calidad media o por una mezcla de concentrado y paja en proporciones 30/70), debería contener entre un 9 y 11 % de proteína bruta, si se asume una degradabilidad de dicha proteína del 80%.

En las fases de mayores demandas proteicas, como son el inicio del crecimiento de los corderos o la lactación de las ovejas, la proteína microbiana también contribuye a cubrir la mayor parte de las necesidades en proteína del animal hospedador, pero es necesario el aporte con el alimento de cantidades considerables de proteína no degradable, como queda de manifiesto en las *figuras 3 y 4*.

La *figura 3* muestra la evolución de las necesidades en proteína metabolizable (PM) de corderos en cebo intensivo entre 12 y 24 kg de peso vivo, y los aportes de PM en forma de proteína microbiana y proteína no degradable, suponiendo que los animales reciben *ad libitum* una ración compuesta por un 90% de cebada y un 10% de paja. Todas las estimaciones se han hecho siguiendo las recomendaciones del AFRC (1993), asumiendo una eficiencia de síntesis de proteína microbiana de 10 g/MJ EM y un crecimiento

Cuadro 1. Ventajas y desventajas de la fermentación ruminal.		
	Ventajas	Desventajas
Metabolismo de los hidratos de carbono y eficiencia energética	<ul style="list-style-type: none"> ■ Degradación de polisacáridos B 1-4 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Pérdidas energéticas en forma de metano y calor de fermentación. ■ Menor eficiencia energética de utilización de los ácidos grasos volátiles en relación a la glucosa.
Metabolismo proteico	<ul style="list-style-type: none"> ■ Posibilidad de utilizar NNP para la síntesis de proteína microbiana. ■ Relativa independencia del perfil aminoacídico de quimo duodenal de la composición en aminoácidos de la proteína dietética. ■ Posibilidad de supervivencia del hospedador con dietas de bajo contenido en nitrógeno, debido al reciclaje de la urea al rumen. 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Degradación de la proteína dietética independientemente de su calidad. ■ Pérdidas de nitrógeno por imposibilidad de captación por las bacterias del total de amoníaco procedente de la degradación de los compuestos nitrogenados.



del vellón de 5,5 g/día. La proteína microbiana cubriría un 60, 66, 70 y 78% de las necesidades totales de PM a los 12, 16, 20 y 24 kg de peso vivo, respectivamente, si no se considera el crecimiento del vellón, y un 50, 56, 60 y 67 % de las necesidades si se considera el crecimiento del vellón. Aún

teniendo en cuenta el aporte de proteína no degradable con la cebada, quedarían por cubrir un 30, 21, 18 y 8% de las necesidades en el primer caso y un 41, 34, 29 y 26 % en el segundo, a los pesos indicados. Para llegar a satisfacer el total de las necesidades es necesario incluir en el concentrado un suplemento proteico en sustitución de la cebada. Si se utiliza como suplemento torta de soja, con un contenido en proteína bruta de 490 g/kg MS, debería de incluirse en proporciones del 39, 25, 21 y 9 % en el concentrado en sustitución de la cebada si se asume una degradabilidad de la proteína de la soja del 70%, y en proporciones del 28, 18, 14 y 6% si se considera una degradabilidad de la proteína de la soja del 60%, en ambos casos sin tener en cuenta los requerimientos para el crecimiento del vellón. Si se consideran éstos, las proporciones de soja en el concentrado deberían de incrementarse hasta el 60, 48, 39 y 24%, asumiendo una degradabilidad de la proteína de soja del 70%, y el 45, 33, 27 y 17% si se considera una degradabilidad del 60%.

En la *figura 4* se presentan las necesidades en PM de ovejas en lactación amamantando 1 o 2 corderos, y los aportes de PM en forma de proteína microbiana y proteína no degradable, suponiendo que los animales reciben una ración compuesta por un 60% de heno de gramíneas y un 40% de cebada, en cantidad suficiente para cubrir las necesidades en energía. Las estimaciones se han hecho siguiendo las recomendaciones del AFRC (1993), asumiendo una eficiencia de síntesis de proteína microbiana de 10 u 11 g/MJ EM fermentable en rumen. Como en el caso de los corderos, la proteína microbiana cubriría la mayor parte de las necesidades totales en PM (un 54 y un 59%, según se considere una eficiencia de síntesis microbiana de 10 u 11 g/MJ EM fermentable, tanto en ovejas amamantando uno como dos corderos). Aún teniendo en cuenta el aporte de proteína no degradable con el heno y la cebada, quedarían por cubrir un 23 y un 17 % de las necesidades totales. Si se utiliza torta de soja como suplemento proteico para cubrir el déficit de PM, debería de incluirse en el concentrado en proporciones del 35 % si la degradabilidad de la proteína de la soja fuese del 70%, y en proporciones del 25% si su degradabilidad fuese del 60%, en ambos casos asumiendo la máxima eficiencia de síntesis microbiana. El déficit en PM podría ser también cubierto utilizando un forraje con un mayor contenido en

proteína no degradable en rumen.

Los ejemplos que se presentan en las *figuras 3 y 4* ponen claramente de manifiesto la repercusión que tiene la degradabilidad ruminal de la proteína sobre los niveles de suplementación requeridos. En general los datos de la bibliografía muestran un incremento en el total de proteína en duodeno al sustituir (en términos isoproteicos) suplementos de alta degradabilidad por otros de baja degradabilidad. No obstante, la respuesta no suele ser proporcional al incremento en proteína no degradable debido a que en muchos casos se ve negativamente afectada la cantidad de proteína microbiana que llega a duodeno [Clark *et al.*, 1992]. Este descenso se debería en algunos casos a la menor disponibilidad de energía por los microorganismos del rumen al sustituir una fuente degradable por otra menos degradable, mientras que en otros se puede deber a un déficit de proteína degradable para la obtención de una máxima síntesis microbiana.

El perfil aminoacídico de la proteína microbiana es muy similar al de las proteínas de la leche y tejidos y, por consiguiente, de elevado valor biológico. No obstante existe una gran variabilidad individual, encontrándose en la bibliografía valores de contenido en lisina que varían entre un 4,9 y un 9,5%, y de metionina entre un 1,1 y un 4,9% [Clark *et al.*, 1992]. En estas condiciones, ciertos aminoácidos como la lisina, la metionina, la histidina, la treonina, el triptófano, la fenilalanina y los ramificados, pueden ser limitantes tanto para la producción de leche [Rulquin y Verité, 1993] como para la producción de carne [Merchen y Titgemeyer, 1992], dependiendo de la ración basal. Este déficit de algún aminoácido en particular puede ser cubierto mediante la elección adecuada del suplemento proteico o la utilización de aminoácidos sintéticos protegidos.

De lo hasta ahora expuesto se deduce, por una parte, la importancia de optimizar la síntesis microbiana en el rumen, y por otra, de conocer los mecanismos de degradación y fermentación de la proteína dietética, los factores que afectan a dicha degradación y la forma en que puede ser manipulada la dieta para conseguir un mayor paso de proteína sin degradar al duodeno. Por otra parte, aunque la mayor parte de las bacterias son capaces de utilizar el amoníaco como fuente de nitrógeno, el ritmo de producción supera frecuentemente a la capacidad de captación por los microorganismos, lo que supone una pérdida de proteína en forma

Figura 3. Necesidades y aporte de proteína metabolizable procedente de los microorganismos del rumen y del alimento en corderos en cebo intensivo con una dieta con 90% cebada + 10% paja. (AFRC, 1993)

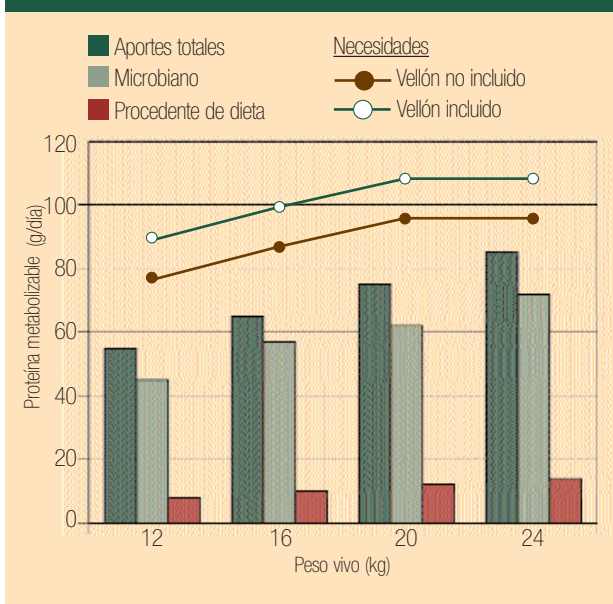


Figura 4. Necesidades y aportes de proteína metabolizable procedente de los microorganismos del rumen o del alimento en ovejas en lactación amamantando 1 o 2 corderos alimentadas con una ración mixta 60/40 de forraje y cebada.

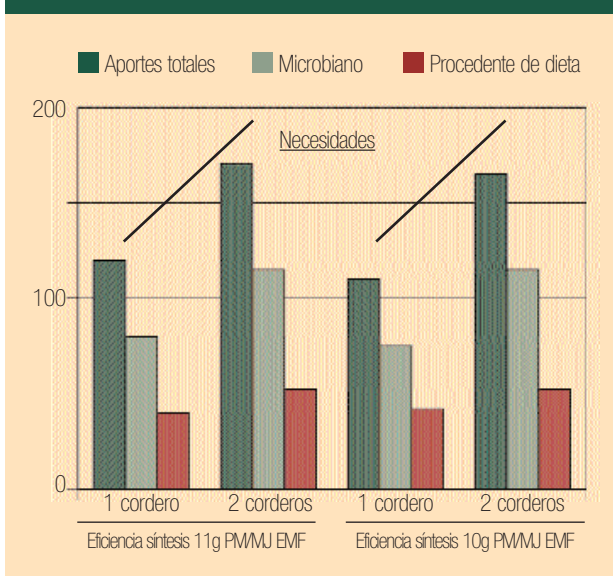
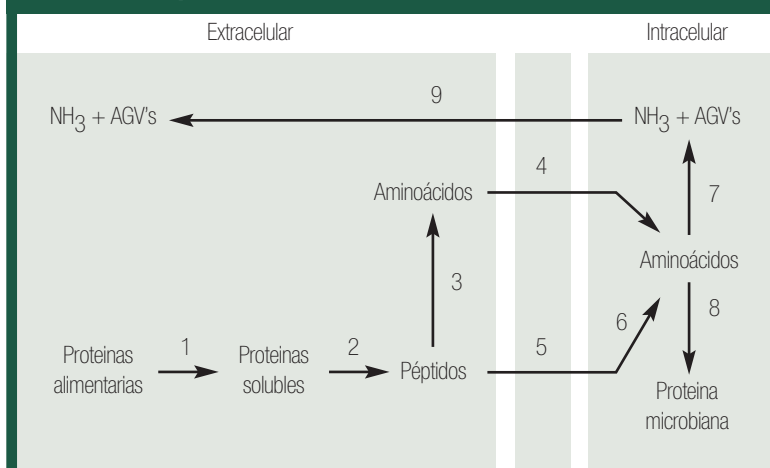


Figura 5. Mecanismos de degradación y fermentación de la proteína del alimento. (Russell *et al.*, 1991)



1. Solubilización; 2. Proteólisis; 3. Actividad peptidasa extracelular; 4. Transporte de aminoácidos al interior de la célula; 5. Transporte de péptidos al interior de la célula; 6. Actividad peptidasa intracelular; 7. Desaminación de aminoácidos; 8. Síntesis de proteína microbiana; 9. Difusión pasiva de amoníaco y AGV's.

de amoníaco y finalmente urea, que puede superar el 25% [Russell *et al.*, 1992]. Ello conlleva no sólo un dispendio de nitrógeno, sino también un gasto energético derivado de la síntesis de urea en hígado y una mayor contaminación orgánica del medio ambiente, lo que pone de relieve la importancia de utilizar en cada momento la fuente de proteína más adecuada.

En esta revisión nos centraremos en el análisis de algunos aspectos relativos a los procesos de degradación de los compuestos nitrogenados de la dieta y a los factores que afectan a dicha degradación.

Mecanismos de degradación de los compuestos nitrogenados

La degradación de las proteínas alimentarias en el rumen se lleva a cabo, como se ha comentado previamente, por la acción de enzimas microbianos, siendo la participación de las bacterias predominante en relación a la de los protozoos y los hongos.

Las materias nitrogenadas no proteicas son rápidamente degradadas a amoníaco, mientras que la degradación de las proteínas se desarrolla más lentamente. En el caso de las bacterias el proceso exige un contacto íntimo entre la proteína y la célula bacteriana, dado que las proteasas están ligadas a la superficie externa de su pared celular [Kopečný y Wallace, 1982]. Este contacto se realiza mediante la adsorción de las proteínas solubles a la pared de las bacterias o por adhesión de las bacterias a las proteínas insolubles. En el caso de los protozoos, las partículas de alimento son ingeridas por fagocitosis y sometidas a la acción de sus enzimas digestivos.

La *figura 5* muestra esquemáticamente los mecanismos de degradación y fermentación de las proteínas por las bacterias del rumen. De las distintas etapas que comprende el

proceso de degradación, la solubilización de la proteína puede ser limitante, debido a que las enzimas proteolíticas actúan en medio acuoso. Respecto a las otras etapas (proteólisis, fermentación de péptidos, paso de péptidos y aminoácidos a la célula bacteriana, y desaminación), cada una de ellas puede ser limitante dependiendo del tipo de proteína de que se trate [Broderick *et al.*, 1991]. Así, la caseína sufre una rápida proteólisis, con un acúmulo temporal de péptidos y aminoácidos, en tanto que durante la degradación de la fracción 1 de proteína foliar de la alfalfa no se aprecia la acumulación de dichos compuestos [Nugent y Mangan, 1981].

Microorganismos responsables de la degradación proteica en el rumen

Hasta un 50% de las bacterias ruminales pueden mostrar actividad proteolítica [Broderick *et al.*, 1991], aunque dicha proporción varía considerablemente con la dieta, al igual que lo puede hacer la preponderancia de una u otra especie bacteriana. Las bacterias proteolíticas corresponden en su mayor parte a las consideradas sacarolíticas, e incluyen los géneros *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Selenomonas*, *Eubacterium* y *Streptococcus*.

Dada la gran variedad tanto de bacterias proteolíticas existentes en el rumen como de actividad proteasa que intervienen en el proceso, y teniendo en cuenta que cada especie bacteriana interviene no sólo en la degradación proteica sino también en otros muchos procesos de fermentación, no parece hoy en día factible el control de la proteólisis mediante la eliminación de alguna población microbiana en concreto, o la inhibición de alguna actividad proteasa específica [Broderick *et al.*, 1991].

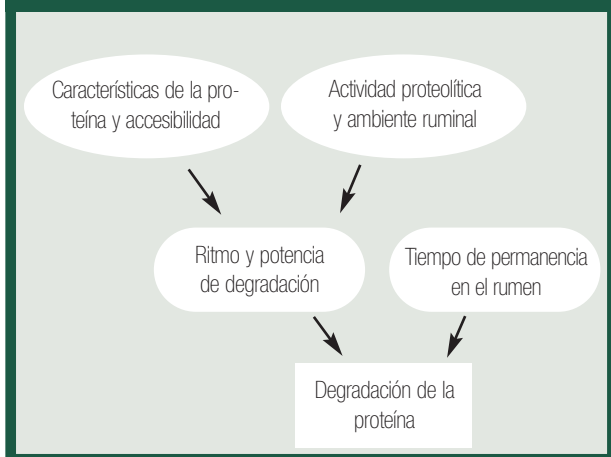
Al igual que en la proteólisis, son numerosas las bacterias que intervienen en el catabolismo de los péptidos y aminoácidos, y múltiples en consecuencia las actividades peptidolíticas y desaminasa, siendo difícil la manipulación de la flora microbiana para reducir la degradación de los péptidos a aminoácidos y la fermentación de éstos a amoníaco y ácidos grasos volátiles.

Varias especies de protozoos, tanto holotricos como entodiniomorfos, muestran actividades proteasa, dipeptidasa y desaminasa [Wallace, 1991], si bien los entodiniomorfos tendrían una mayor contribución, debido a su mayor abundancia [Wallace y Cotta,

Cuando los niveles de producción son elevados es necesario un aporte suplementario de proteína alimentaria que llegue al duodeno sin haber sido degradada en el rumen.

Como se ha comentado previamente, el crecimiento microbiano y, por consiguiente, el flujo de proteína microbiana al duodeno, depende de la disponibilidad de energía fermentable en el rumen, siempre que estén cubiertas las necesidades en nitrógeno disponible. Existen, no obstante, diversos factores adicionales que pueden modificar la relación entre el flujo de proteína microbiana a duodeno y la disponibilidad de energía en rumen. Entre ellos cabe destacar, la tasa de renovación del contenido ruminal y la sincronización entre la liberación de energía y proteína del alimento. Estos y otros factores que afectan a la síntesis microbiana en el rumen han sido analizados en numerosas revisiones [Beever, 1993; Firkins, 1996].

Figura 6. Factores que afectan a la degradación de la proteína del alimento.



1988]. Los protozoos actúan fundamentalmente sobre la proteína no soluble previa fagocitosis de las partículas del alimento, siendo muy escasa su acción sobre las proteínas solubles [Ushida *et al.*, 1991]. No obstante, la mayor actividad proteolítica la ejercen sobre las propias bacterias ruminales, por lo que la defaunación de los animales se refleja fundamentalmente en un descenso del reciclaje de la proteína microbiana [Wallace y McPherson, 1987] y en consecuencia en un incremento en el flujo de proteína microbiana a duodeno [Wallace y Cotta, 1988; Ushida *et al.*, 1991].

La importancia de los hongos anaerobios en la digestión ruminal estaría relacionada fundamentalmente con la colonización y degradación de los tejidos lignificados de las plantas, favoreciendo el acceso de las enzimas bacterianas [Fonty y Joblin, 1991]. No obstante, algunas cepas como *Neocallimastix frontalis*, presentan una elevada actividad proteolítica, como ha sido puesto en evidencia por Wallace y Munro (1986), en estudios *in vitro*.

Factores que afectan a la degradación de los compuestos nitrogenados en el rumen

El ritmo de degradación y la cantidad total de proteína del alimento potencialmente degradable en el rumen, dependen de la accesibilidad y características de la proteína y de la actividad proteolítica del contenido ruminal. No obstante, la cantidad que es realmente degradada y, en consecuencia, la cantidad de proteína del alimento que pasa a duodeno sin

degradar viene también determinada por el tiempo de permanencia del alimento en el rumen (figura 6).

Actividad proteolítica y ambiente ruminal

La actividad proteolítica esta íntimamente relacionada con la concentración de microorganismos en el rumen y, por consiguiente, con la disponibilidad de energía y nitrógeno y los distintos factores que afectan al crecimiento microbiano. Así, concentraciones bajas de amoníaco pueden limitar la actividad proteolítica en el rumen, debido fundamentalmente a una reducción concomitante de la actividad microbiana en general. Por otra parte, concentraciones elevadas de amoníaco pueden provocar un descenso de la actividad proteolítica, tal vez por algún mecanismo de retroinhibición [Erfle *et al.*, 1977].

El incremento de la proporción de concentrado en la ración provoca un descenso de la concentración de la flora celulolítica y un aumento de la amilolítica, y viene acompañado de un descenso del pH del medio, debido al incremento en la concentración de ácidos grasos y ácido láctico. El cambio del tipo de microorganismos del rumen debido al cambio de la proporción de concentrado, no parece tener un efecto depresivo *per se* sobre la actividad proteolítica, dado que dicha actividad se desarrolla en un gran número de especies bacterianas. Sin embargo, el descenso del pH que se origina al incrementar la proporción de concentrados en la dieta puede afectar negativamente a la solubilidad de las proteínas debido a que el punto isoeléctrico, o pH en el cual las proteínas muestran mayor estabilidad, es generalmente ácido [Cotta y Hespell, 1986]. Hay que tener en cuenta también que a valores de pH inferiores de 5,5 se inhibe el crecimiento de los protozoos [Wallace y Cotta, 1988].

El aporte de antibióticos ionóforos como la monensina puede llegar a producir un incremento de hasta un 25% en la cantidad de proteína alimentaria que llega a duodeno sin degradar [Whetstone *et al.*, 1981], aunque paralelamente provoca una depresión en la eficiencia de síntesis microbiana, por lo que su efecto sobre la cantidad total de proteína que llega a duodeno no es evidente [Kobayashi *et al.*, 1991]. Broderick *et al.* (1991), señalan tres posibles mecanismos de actuación de los ionóforos sobre el metabolismo del nitrógeno en el rumen:

1) Inhibición de la metanogénesis, provocando un déficit de coenzima

NAD reductor y en consecuencia una inhibición de la desaminación de aminoácidos reducidos, en particular de cadena ramificada.

2) Acción deletérea selectiva sobre bacterias con elevada actividad proteolítica (*Streptococcus bovis*) o desaminasa (*Peptostreptococcus spp.*).

3) Modificación de los mecanismos de transporte de aminoácidos y péptidos a través de la pared celular de ciertas bacterias como *B. rumenicola*.

Factores relacionados con las características del alimento

Independientemente del ambiente o actividad proteolítica ruminal, la tasa de degradación de las proteínas de los alimentos en el rumen depende fundamentalmente de sus características físico-químicas, sobre todo de su solubilidad, estructura y grado de protección por otras estructuras no proteicas.

■ Solubilidad

Como ya se ha comentado, las enzimas bacterianas actúan en medio acuoso, por lo que una mayor solubilidad permite una mayor accesibilidad de las proteasas y, en general, las proteínas más solubles son más susceptibles a la degradación ruminal. Es por ello que numerosos autores han utilizado el valor de solubilidad de las fuentes de proteína en diferentes tampones minerales como un índice de su degradabilidad en rumen.

Desde principios de siglo se han clasificado las proteínas en función de su grado de solubilidad frente a distintos solventes, en albúminas (solubles en agua), globulinas (solubles en solución salina), glutelinas (solubles en solución alcalina diluida) y prolaminas (solubles en alcohol diluido en agua). La proporción en que cada una de estas fracciones entra a formar parte de las proteínas del alimento explica gran parte de su potencial de degradación en el rumen [Fahmy *et al.*, 1991].

Sin embargo, la solubilidad no es el único factor que determina el potencial de degradación de las proteínas del alimento en el rumen. Así, proteínas de elevada solubilidad como la lactoalbúmina, la albúmina de suero bovino y las gammaglobulinas, presentan ritmos de degradación muy diferentes cuando son expuestas a proteasas bacterianas (tabla 1). Por otra parte, Mahadevan *et al.* (1980) no encuentran diferencias en la degradación *in vitro* frente a proteasas, entre las fracciones soluble e insoluble de la proteína de turtó de soja.

■ Estructura

Independientemente de que la solubilidad pueda facilitar el acceso de los enzimas proteolíticos al sustrato, la degradabilidad de las proteínas depende en gran medida de su estructura. Así, la ovoalbúmina es muy soluble, pero presenta una elevada resistencia a la degradación ruminal, achacando

Tabla 1. Influencia del contenido en puentes disulfuro y de su rotura por tratamiento con peróxido sobre el ritmo de hidrólisis de diferentes proteínas tratadas con proteasas del líquido ruminal. (Wallace, 1983)

Proteína	Contenido en disulfuro (nmol/mg)	Tratamiento (mg/h./mg proteasa)	
		Control	Oxidada
Caseína	11	0.995	0.839
Lactoglobulina	282	0.484	1.038
Albumina SB	257	0.072	1.311
γ Globulina	181	0.023	0.675

cada a su peculiar estructura primaria [Cotta y Hespell, 1986], caracterizada por presentar un resto de prolina y un aminoácido acetilado en los extremos.

No obstante, la estructura terciaria y la existencia de enlaces cruzados en la molécula de proteína es lo que en mayor medida condiciona su susceptibilidad a la degradación. Las proteínas con un elevado contenido en puentes disulfuro (como albúminas e inmunoglobulinas), o enlaces covalentes (como en el caso de la elastina), o aquellas que presentan un elevado entrecruzamiento debido a la acción de tratamientos químicos, se degradan más lentamente que otras con menor grado de estructuración.

La importancia de la presencia de puentes disulfuro sobre la susceptibilidad a la degradación microbiana de las proteínas ha sido ampliamente documentada. Así, Fahmy *et al.* (1991) achacan la menor degradabilidad ruminal de la proteína del maíz (zeína), respecto a las del trigo (gliadina), al mayor contenido en puentes disulfuro de la primera. La relación entre la presencia de puente disulfuro en la estructura terciaria y degradación microbiana de un determinado sustrato ha sido puesta claramente en evidencia por Wallace (1983). Los resultados obtenidos por este autor, que se presentan en la *tabla 1*, muestran que la lactoalbúmina, la albúmina de suero bovino y la gammaglobulina, con un elevado contenido en puentes disulfuro, se degradan

mucho más lentamente que la caseína, menos soluble pero con un contenido en puentes disulfuro prácticamente nulo. Cuando los enlaces disulfuro fueron rotos mediante oxidación con peróxido, el ritmo de degradación de las cuatro proteínas se igualó, debido a un claro incremento de la degradabilidad de las primeras. Además de su riqueza en puentes disulfuro, la gammaglobulina presenta una fracción glucídica en su estructura que contribuiría también a la baja degradabilidad de esta proteína.

■ Accesibilidad

Como ya se ha comentado, la proteólisis viene precedida de la adsorción de la proteína soluble a la célula bacteriana o adhesión de las bacterias a las partículas insolubles de alimento. Por ello, la protección de las proteínas del alimento por estructuras fibrosas o amilósicas puede dificultar su accesibilidad a las enzimas proteolíticas y por consiguiente su degradación.

Ganev *et al.* (1979), muestran una disminución de la degradabilidad de la proteína de suplementos de origen vegetal en el rumen de animales que recibieron una ración concentrada en relación a aquellos que recibieron una

ración forrajera, achacando dicho efecto al descenso de la actividad celulolítica, y en consecuencia de la degradación de las paredes celulares, motivado por el descenso del pH. La *figura 7* muestra el efecto depresor sobre la degradabilidad *in situ* de la proteína de semillas de leguminosas al sustituir, en ovino, una ración compuesta por un 100% de forraje por otra con un 20% de forraje y un 80% de concentrado. A conclusiones similares llegan Castrillo *et al.* (1992), cuando comparan la degradabilidad *in situ* de distintas fuentes de proteína, en corderos de cebo intensivo, recibiendo raciones con un 6 o un 23% de paja. Lindberg (1981), por otra parte, pone en evidencia una disminución paralela de la degradabilidad de los compuestos nitrogenados y de las paredes celulares cuando incrementa la proporción de concentrado en la dieta, concluyendo que, en ciertos alimentos, la degradación de ciertas fracciones proteicas está condicionada por la de las estructuras fibrosas que las protegen. Incluso, los nuevos sistemas de valoración proteica [Sniffen *et al.*, 1992 y AFRC, 1993], consideran indegradable la proteína ligada a la fracción fibra ácido detergente del alimento.

Figura 7. Degradabilidad de la proteína de semillas de leguminosas en función del tiempo de incubación y de la ración recibida por las ovejas (Baucells *et al.* 1987).

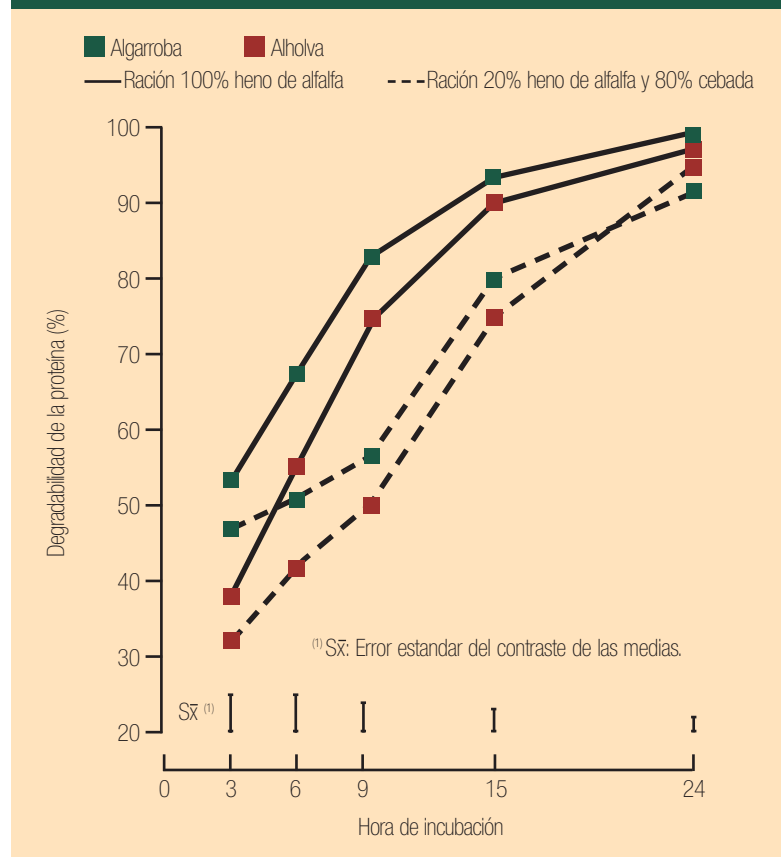
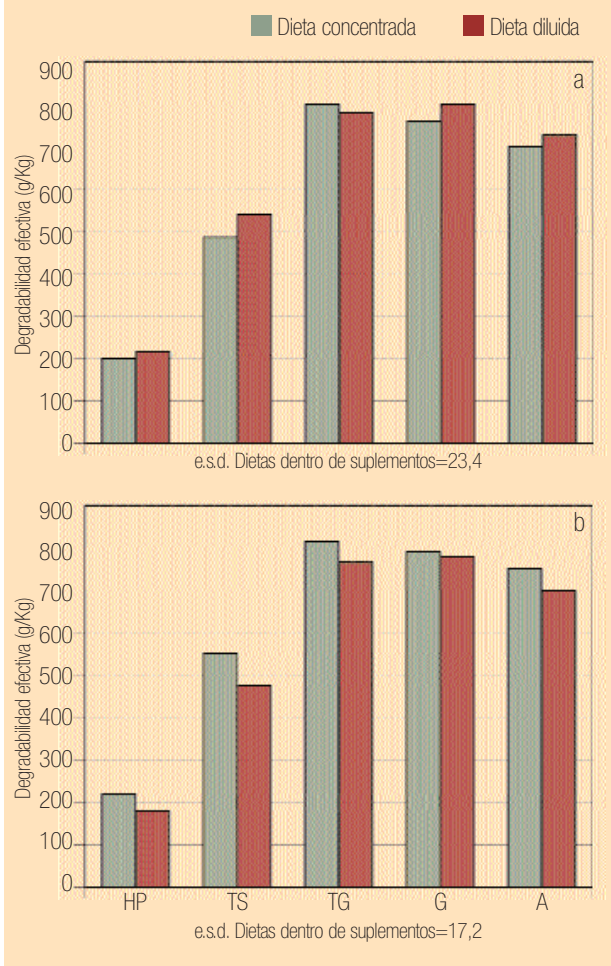


Figura 8. Efecto de la dieta sobre la degradabilidad efectiva de la proteína, según se considere un ritmo fraccional de paso a través del rumen medio (0,0628/h.) (a) o los ritmos de paso obtenidos experimentalmente con cada dieta (b) (0,0486/h., concentrada, y 0,0769/h., diluida). (Castrillo *et al.*, 1992)



HP: Harina de pescado; TS: Turtó de soja;
TG: Turtó de girasol; G: Guisante; A: Altramuz dulce.

Tiempo de permanencia del alimento en el rumen

La tasa de degradación de la proteína alimentaria en el rumen depende no sólo de su potencial de degradación y actividad enzimática, sino también del tiempo de exposición de la proteína a dicha actividad, esto es, de su tiempo de permanencia en el rumen.

La figura 8 pone de manifiesto la importancia que puede tener la variación del tiempo de permanencia de los alimentos en el rumen sobre su degradabilidad efectiva. En la gráfica superior (a) se observa que un incremento de la proporción de paja en la dieta de corderos en cebo intensivo da lugar, generalmente, a incremento

de la degradabilidad de los suplementos proteicos de origen vegetal. Sin embargo, dicha dilución de la dieta incrementó el ritmo de paso de los suplementos a través del rumen, y cuando se consideraron ambos efectos conjuntamente la degradabilidad efectiva de los suplementos proteicos fue en general inferior en los animales que recibieron la dieta diluida.

El efecto del tiempo de permanencia sobre la degradabilidad de la proteína en el rumen depende de su cinética de degradación. La variación del tiempo de permanencia afecta en mayor medida a aquellos suplementos proteicos con una elevada fracción potencialmente degradable y bajo ritmo fraccional de degradación, como es el caso de la torta de soja, y en menor medida en aquellos suplementos proteicos que presentan un elevado ritmo fraccional de degradación (caso de la torta de girasol) o una baja fracción de proteína no soluble potencialmente degradable (caso de la harina de pescado) (tabla 2).

El tiempo de permanencia del alimento en el rumen viene afectado fundamentalmente por el nivel de ingestión y la relación forraje/concentrado. Al incrementar el plano de alimentación aumenta la tasa de renovación del contenido ruminal y, por consiguiente, disminuye el tiempo de permanencia del alimento en el rumen. La tabla 3, muestra que un incremento en el plano de alimentación de una vez mantenimiento (G1) a dos veces mantenimiento (G2), cuando se administró un forraje granulado a ovejas, supuso un incremento del ritmo fraccional de paso de las partículas de suplemento proteico en el rumen de un 2,2 % a un 3,1 % por hora. Por otra parte, un incremento en la proporción de paja del 6 (C) al 23 % (D) en dietas concentradas ofrecidas a corderos en cebo intensivo se reflejó en un incremento del ritmo fraccional de paso a través del rumen de las partículas de 4,8 a 7,9 % por hora [Castrillo *et al.*, 1992], debido probablemente a la mayor salivación y motilidad ruminal provocada por el incremento de la proporción de paja en la dieta.

Otro factor ligado a la dieta que puede modificar el tiempo de permanencia de las partículas de los suplementos proteicos en el rumen es la forma de presentación de la ración basal. Los resultados de la tabla 3, muestran que cuando a las ovejas se les ofreció forraje en forma granulada (G2), el ritmo de paso de las partículas de suplemento fue 2,5 % por hora inferior al obtenido cuando se ofreció

a los animales la misma ración presentada de forma larga (L2).

En ganado ovino, numerosos autores han mostrado que al final de la gestación se incrementa la tasa de renovación del contenido ruminal, debido probablemente a la reducción de la capacidad de carga ruminal motivada por el volumen que ocupa en la cavidad abdominal el útero grávido, si bien no se descarta también un efecto hormonal. Por otra parte, la tasa de renovación ruminal aumenta cuando la temperatura ambiente desciende por debajo de cero grados. Un efecto similar se ha observado en el caso del ovino después del esquila.

Conclusiones

La mayor parte de la proteína que llega al duodeno es de origen microbiano, y alcanza a cubrir la totalidad o la mayor parte de las necesidades del animal cuando el nivel de producción es bajo o moderado. Es necesario, por consiguiente, procurar un crecimiento microbiano máximo, teniendo para ello en cuenta los distintos factores relacionados con la dieta que pueden afectar a la eficiencia de síntesis. Entre ellos, la sincronización entre el aporte de energía y nitrógeno disponible para los microorganismos se considerará hoy en día fundamental.

Cuando los niveles de producción son elevados, como ocurre al inicio del crecimiento, al final de la gestación y, sobre todo, en los primeros meses de la lactación, es necesario un aporte suplementario de proteína alimentaria que llegue al duodeno sin haber sido degradada en el rumen. Dicho aporte es proporcionado en parte por la dieta basal, pero cuando no es suficiente es preciso una suplementación, generalmente con concentrados proteicos. Por ello, la característica principal que define el valor proteico de dichos suplementos es su resistencia a la degradación en el rumen.

Dada la diversidad de microorganismos del rumen con actividad proteasa, peptidasa y desaminasa, es difícil hoy en día manipular el ritmo de degradación de la proteína alimentaria mediante la inhibición de alguna especie o cepa bacteriana concreta o alguna enzima específica. Por ello el medio más común de incrementar la cantidad de aminoácidos de origen alimentario que llegan a duodeno es el tratamiento de los suplementos proteicos por medios físicos o químicos, entre los cuales el tratamiento con calor, la protección física mediante encapsulación

Tabla 2. Degradabilidad efectiva (dg) de la proteína de diferentes suplementos proteicos en función del ritmo fraccional de paso (k, h⁻¹) a través del rumen considerado. (AFRC, 1993)

	PB (g/kg MS)	a (%)	b (%)	c (h ⁻¹)	dg 2 (%)	dg 8 (%)
H. de girasol	370	24	71	0,35	91	82
H. de soja	538	8	92	0,08	82	54
H. Cacahuete	520	22	77	0,09	85	63
H. de pescado	694	30	63	0,02	62	43
Gluten feed	207	61	36	0,09	90	80
Guisante	252	56	44	0,09	92	79
Altramuz	342	26	73	0,13	89	71

a, b, y c son las constantes de la curva de degradación del nitrógeno en rumen ($dg N = a + b(1 - e^{-ct})$), en la que (a) representa la fracción del nitrógeno soluble, (b) la fracción potencialmente degradable y (c) el ritmo fraccional de degradación. dg2 y dg8 representan la degradabilidad efectiva de la proteína calculada a partir de la ecuación $dg = a + b(c/c+k)$, asumiendo ritmos fraccionales de paso (k) de 0,02 y 0,08 h⁻¹, respectivamente.

Numerosos autores opinan que al final de la gestación se incrementa la tasa de renovación del contenido ruminal.

Tabla 3. Influencia de la dieta sobre la tasa de renovación (TS) de las partículas en el rumen. (Castrillo *et al.*, 1987)

Ovejas			Corderos		
Dieta	Materia Seca Ingerida (g/kg PV ^{0,75})	TS (1/h)	Dieta	Materia seca ingerida (g/kg PV ^{0,75})	TS (1/h)
G1	32,8	0,0224	C	88,4	0,0480
G2	63,6	0,0311	D	85,1	0,0787
L2	63,2	0,0564			

G1 - Forraje granulado ofrecido a ovejas adultas a un plano de alimentación próximo a mantenimiento; G2 - Forraje granulado ofrecido a ovejas adultas a un plano de alimentación próximo a dos veces mantenimiento; L2 - Forraje largo ofrecido a ovejas adultas a un plano de alimentación próximo a dos veces mantenimiento; C - Dieta concentrada con un 6% de paja, ofrecida *ad libitum* a corderos en crecimiento; D - Dieta concentrada con un 23% de paja, ofrecida *ad libitum* a corderos en crecimiento.

con componentes orgánicos de difícil degradación y el tratamiento con formaldehído, han sido los más utilizados.

BIBLIOGRAFÍA

AFRC (1993). Energy and Protein Requirements of Ruminants. CAB International, Wallingford, UK.

BAUCELLS, M.D., CASTRILLO, C. y GUADA, J.A. (1987). Degradación en el rumen de algunas semillas de leguminosas. Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. VIII Jornadas Científicas de la SEOC. pp 335-338.

BEEVER, D.E. (1993). Rumen function. En: Quantitative aspects of Ruminant Digestion and Metabolism. pp 187-215. J.M. Forbes y J. France, eds.. CAB International.

BRODERICK, G.A., WALLACE, R.J. y ØRSKOV, E.R. (1991). Control of rate and extent of protein degradation. En: Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants. T. Tsuda, Y. Sasaki y R. Kawashima, eds. Academic Press, Inc.. pp 541-592.

CASTRILLO, C. y GASA, J. (1990). Utilización de subproductos agroindustriales. Ovis, 11: 61-71.

CASTRILLO, C., LAINEZ, M., GASA, J. y GUADA, J.A. (1992). The effect of increasing the proportion of barley straw in pelleted diets given to lambs on rumen outflow rate and degradation of protein supplements. Anim. Prod., 54: 59-66.

CASTRILLO, C., GUADA, J.A., VEGA, A., LAINEZ, M. y GASA, J. (1987). Effet de la nature de la ration, de sa forme de presentation et du niveau d'ingestion sur la vitesse de passage des supplements proteiques dans le rumen, chez la brebis et chez l'agneau. Repr. Nutr. Dévelop., 27: 31-32.

CLARK, J.H., KLUSMEYER, T.H. y CAMERON, M.R. (1992). Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. J. Dairy Sci., 75: 2304-2323.

COTTA, H. A. y HESPELL, R. D. (1986). Protein and amino acid metabolism of rumen bacteria. En: Control of Digestion and Metabolism in Ruminants. L. P. Milligan, W.L. Grovum , A. Dobson , eds.. Prentice Hall. pp. 122-136.

ERFLE, J. D., SAUER, F.D. y MAHADEVAN, S. (1977). Effect of ammonia concentration on activity of enzymes of ammonia assimilation and on synthesis of aminoacid by mixed rumen bacteria in continuous culture. J. Dairy Sci., 60:1064-1078.

FAHMY, W.R., AUFRERE, J., GRAVIOU D., DEMARQUILLY, C. y EL-CHAZLY, K. (1991). Comparison between the mechanisms of protein degradation of two cereals by enzymatic and in situ methods, using gel electrophoresis. Anim. Feed Sci. Tech., 35: 115-130.

FIRKINS, J.L. (1996). Maximizing microbial protein synthesis in the rumen. J. Nutr., 126: 1347s-1354s.

FONTY, G. y JOBLIN, K.N. (1991). Rumen anaerobic fungi: Their role and interactions with other rumen microorganisms in relation to fiber digestion. En: Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants. T. Tsuda, Y. Sasaki, R. Kawashima, eds. Academic Press, Inc. pp. 655-680.

GANEV, G., ØRSKOV, E.R. y SMART, R. (1979). The effect of roughage or concentrate feeding and rumen retention time on total degradation of protein in the rumen. J. Agric. Sci., Cambridge, 93: 651-656.

KOBAYASHI, Y., WAKITA, M., SAKANCHI, R. y HOSHINO, S. (1991). Effects of ionophoros on rumen microbes and host animal nutrition. En: The rumen ecosystem. The microbial metabolism and its regulation. S. Hoshino, R. Onodera, H. Minato y H. Itabashi, eds. Japan Sc. Press. Springer-Verlag. pp 179-186.

KOPECNY, J. y WALLACE, R.J. (1982). Cellular location and some properties of proteolytic enzymes of rumen bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 43:1026-1033.

LINDBERG, J.E. (1981). The effect of basal diet

on the ruminal degradation of the dry matter, nitrogenous compounds and cell walls in nylon bags: Roughage and cereals in various proportions. Swedish J. Agric. Res., 11: 159-169.

MAHADEVAN, S., ERFLE, J.D. y SAUER, F.D. (1980). Degradation of soluble and insoluble proteins by Bacteroides-amylophilus protease and by the rumen microorganisms. J. Anim. Sci., 50: 723-728.

MERCHEN, N.R. y TITGEMEYER, C. (1992). Manipulation of amino acid supply to the growing ruminant. J. Anim. Sci., 70: 3238-3247.

NUGENT J.H.A. y MANGAN, J.L. (1981). Characteristics of the rumen proteolysis of fraction I (18c) leaf protein from lucerne (Medicago sativa). Br. J. Nutr., 46: 39-58.

ØRSKOV, E. R. y ROBINSON, J.J. (1981). The application of the modern concept of ruminant protein to sheep production system. Livest. Prod. Sci. 8: 339-350.

PÉREZ, J.F., BALCELLS, J., GUADA, J.A., CASTRILLO, C. (1997). Rumen microbial production estimated either from urinary purine derivative excretion or from direct measurements of N15 and purine bases as microbial markers: effect of protein source and rumen bacteria isolates. Animal Science, 65: 225-236.

RULQUIN, H. y VERITE, R. (1993). Amino acid nutrition of ruminants. En: Recent Advances in Animal Nutrition. Nottingham University Press. pp 55-77.

RUSSELL, J.B., O'CONNOR, J.D., FOX, D.G., VAN SOEST, P.J. y SNIFFEN, C.J. (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminant fermentation. J. Anim. Sci., 70: 3551-3561.

RUSSELL, J.B., ONODERA, R. e HINO, T. (1991). Ruminant protein fermentation: New perspectives en previous contradictions. En: Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants. T. Tsuda, Y. Sasaki y R. Kawashima, eds. Academic Press, Inc.. pp. 681-697.

SNIFFEN, C.J., O'CONNOR, J.D., VAN SOEST, P.J., FOX, D.G. y RUSSELL, J.B. (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. J. Anim. Sci., 70: 3562-3577.

USHIDA, K., JOUANY, J.P. y DEMEYER, D.I. (1991). Effects of presence or absence of rumen protozoa on the efficiency of utilization of concentrate and fibrous feeds. En: Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants. T. Tsuda, Y. Sasaki y R. Kawashima eds. Academic Press, Inc. pp 625-654.

WALLACE, R.J. (1983). Hydrolysis of 14C labelled proteins by rumen microorganisms and by proteolytic enzymes prepared from rumen bacteria. Br. J. Nutr., 50: 345-355.

WALLACE, R.J. (1991). Rumen proteolysis and its control. En: Rumen microbial metabolism and ruminant digestion. J.P. Jouany, ed. INRA. pp. 132-150.

WALLACE, R. J. y COTTA, M. A. (1988). Metabolism of nitrogen-containing compounds. En: The rumen microbial Ecosystem. P.N. Hobson, ed.. Elsevier Applied Publication. pp. 217-249.

WALLACE, R.J. y MCPHERSON, C.A. (1987). Factors affecting the breakdown of bacterial protein in rumen fluid. Br. J. Nutr., 58: 313-323.

WALLACE, R.J. y MUNRO, C.A. (1986). Influence of the rumen anaerobic fungus Neocallimastix frontalis on the proteolytic activity of a defined mixture of rumen bacteria growing on a solid substrate. Lett. Appl. Microbiol., 3: 23-26.

WHETSTONE, H. D., DAVIS, C.L. Y BRYANT, M.P. (1981) Effect of monensin on breakdown of protein by ruminal microorganism in vitro. J. Anim. Sci, 53: 803-809.