UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

“EVALUACIÓN DE TRATAMIENTOS APLICADOS SOBRE GRANO DE SORGO COSECHADO SECO: EFECTO EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO*”

Por

Agustín ARTEGOYTIA ARBIZA

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias Orientación: Producción animal.

MODALIDAD: Ensayo experimental

MONTEVIDEO

URUGUAY

2014

PÁGINA DE APROBACIÓN

Presidente de Mesa: _____
Dra. Analía Perez

Segundo Miembro (Tutor): _____
Dr. Martín Aguerre

Tercer Miembro: _____
Ing. María Cristina Cabrera

Fecha: **19 de Diciembre de 2014**

Autor:

_____
Agustín Artegoytia

AGRADECIMIENTOS

™ Al Dr. Martín Aguerre, por darme la oportunidad de realizar el trabajo final y por la orientación durante el mismo.

™ A mis familiares y amigos, por su apoyo constante durante toda la carrera.

™ A mi novia, por acompañarme en los últimos años de la carrera.

™ Al Dr. Mauro Torterolo por su cooperación

™ A los compañeros Mauro Minteguiaga, Magali Audi, Renato Araujo, Marcos Urrestarazu y Mariana Alcantara por todo el tiempo dedicado al trabajo de campo.

™ A la Facultad de Veterinaria UdelaR.

™ A todo el personal del Laboratorio de nutrición de facultad de veterinaria, por el entrenamiento, apoyo científico, académico en el procesamiento de las muestras.

™ A todo el personal del campo experimental de Libertad, por su ayuda a la hora de realizar los trabajos prácticos.

™ A todos los compañeros de producción 2012.

™ A todo el personal de la biblioteca de Facultad de Veterinaria por habernos brindado su servicio para la realización de la revisión bibliográfica.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN 2
AGRADECIMIENTOS 3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS 5
RESUMEN: 6
SUMMARY: 7
1. INTRODUCCIÓN 8
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 10
2.1. DIGESTIÓN DE LOS GRANOS DE CEREALES 10
2.2. PARTICULARIDADES DEL GRANO DE SORGO 12
2.2.1. CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS DEL GRANO DE SORGO 12
2.2.2. PRESENCIA DE TANINOS 13
2.3. EFECTO DE TRATAMIENTOS SOBRE EL SITIO DE DIGESTIÓN DE LOS GRANOS EN RUMIANTES 14
2.3.1. EFECTO DEL ENSILAJE DE GRANO HÚMEDO SOBRE EL APROVECHAMIENTO DEL GRANO DE SORGO 15
2.3.2. TRATAMIENTOS APLICADOS SOBRE GRANOS COSECHADOS SECO 17
2.3.2.1. TRATAMIENTOS EN SECO 17
2.3.2.2. TRATAMIENTOS HÚMEDOS 17
3. HIPÓTESIS: 19
4. OBJETIVOS 19
4.1. Objetivo general 19
4.2. Objetivos particulares 19
5. MATERIALES Y MÉTODOS 20
5.1. DISEÑO Y MANEJO EXPERIMENTAL 20
Análisis químicos: 21
Producción de gas in vitro 21
Análisis estadístico: 22
6. RESULTADOS 23
6.1. Composición química 23
6.2. Producción de gas in vitro 24
7. DISCUSIÓN 25
8. CONCLUSIÓN E IMPLICANCIAS 28
9. BIBLIOGRAFÍA 29

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS:

PÁGINA

Tabla 1. Efecto del tratamiento sobre la digestibilidad del almidón en rumen e intestino de maíz y sorgo « « « « « « « « « « « « « « « 15

Tabla 2. Composición química de las muestras de sorgo.....23

Tabla 3. Composición química del grano seco (GS, control), remojado durante 24h (GR), germinado por 5 días (GG), germinado por 5 días y ensilado por 21 días (GGE), reconstituido como grano entero y ensilado por 21 días (REE) y reconstituido como grano molido y ensilado por 21 días (REM) « « « « « « « 24

Tabla 4. Parámetros de fermentación in vitro de la materia seca del grano seco (GS, control), remojado durante 24 h (GR), germinado por 5 días (GG), germinado por 5 días y ensilado por 21 días (GGE), reconstituido como grano entero y ensilado por 21 días (REE) y reconstituido como grano molido y ensilado por 21 días (REM) « « « « « « « « « « « « « « «

RESUMEN:

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes tratamientos aplicados sobre grano de sorgo cosechado seco sobre la composición química y la producción de gas in vitro. Cinco muestras de sorgo (BMR 1000, Flash1, Flash10, 3034 y Joward food; IPB®, San José, Uruguay) fueron cosechadas como grano seco y sometidas a 6 tratamientos: conservadas como grano seco (control), remojadas por 24h (GR), germinados por 5d (GG), germinados por 5d y ensilados por 21d (GGE), reconstituido a un 30% de humedad y ensilados por 21d como grano entero (REE) y reconstituido a un 30% de humedad y ensilados por 21d como grano molido (REM). Sobre todas las muestras se evaluó el efecto del tratamiento sobre la composición química y la producción de gas in vitro. El contenido de materia orgánica (MO) no difirió entre el grano seco y los tratamientos GR y REE, sin embargo los tratamientos GG, GGE y REM disminuyeron el contenido de materia orgánica ($P<0,05$). Comparado con el grano seco los tratamientos GR, GGE y el REE determinaron una caída en el contenido de almidón ($P<0,05$) la cual fue de mayor proporción que la caída en la concentración de MO. Los tratamientos reconstituido y ensilado (tanto con grano entero como molido) disminuyeron la concentración de taninos condensados de los granos ($P<0,05$). La fermentación in vitro del grano seco fue similar a la del GR y el REE, sin embargo el tiempo en el cual la tasa máxima de fermentación ocurre (T_{max}) fue mayor para el GR que para el grano seco ($P<0,05$). El tiempo en que se alcanzó la producción de la mitad del gas asintótico (C), la tasa máxima de fermentación (R_{max}) y el T_{max} fueron similares entre el tratamiento germinado y el grano seco. Sin embargo, la producción de gas asintótica (A) fue menor en GG que en el grano seco ($P<0,05$). Aunque A fue menor para GGE y REM respecto al seco, estos tratamientos redujeron el C sin afectar $T_{max.}$ El R_{max} aumentó en el GGE ($P<0,05$). En conclusión el tratamiento que incluyó el ensilaje acompañado de la germinación así como reconstituido con el grano previamente molido determinaron cambios en la composición química y resultaron efectivos en disminuir el tiempo de producción de la mitad del gas asintótico y producir la tasa máxima de fermentación.

SUMMARY:

The aim of this study was to evaluate the effects of different treatments applied to sorghum grain which was harvested dry, regarding its chemical composition and its in vitro gas production. Five samples of sorghum (BMR 1000, Flash1, Flash10, 3034 and Joward food, IPB®, San Jose, Uruguay) were harvested as dry grain and subjected to 6 treatments: preserved as dry grain (control); soaked for 24 hrs. (GR); germinated for 5d and ensiled for 21d (GGE); reconstituted to a 30% of its moisture and ensiled for 21d as a whole grain (REE) and reconstituted to a 30% of its moisture and ensiled for 21d as ground grain (REM). The effects of the treatments were evaluated in all the samples focusing on their chemical composition and their in vitro gas production. The content of organic matter (MO) did not differ between the dry grain and GR and REE treatments; however the GG, GGE and REM treatments reduced organic matter content (P<0,05). Compared with the dry grain, GR, GGE and REE treatments resulted in a decrease in starch content (P<0, 05) which was higher than the decrease in the concentration of MO. Reconstituted and ensiled treatments (both whole grain and ground grain) decreased in the concentration of condensed tannins in the grains (P<0,05). In vitro fermentation of dry grain was similar to GR and REE, however, the time at which the maximum rate of fermentation occurs (T_{max}) was longer for GR than for dry grain (P<0, 05). The time for reaching half of the production of the asymptotic gas (C), the maximum fermentation rate (R_{max}) and T_{max} were similar between the germinated treatment and the dry grain. Nevertheless, the asymptotic (A) gas production in GG was lower than the one in the dry grain (P<0, 05). Although A was lower in GGE and REM than in the dry grain, these treatments reduced C without affecting $T_{max.}$ Moreover, the R_{max} increased in the GGE (P<0, 05). In conclusion treatment including not only the silage accompanied by the germination but also the reconstituted grain showed changes in the chemical composition and proved to be effective in decreasing half of the production time of the asymptotic gas and in producing the maximum fermentation rate.

1. INTRODUCCIÓN

A partir de la última década, se ha visto un cambio radical en la agricultura de nuestro país, pasando de casi 600.000 has cultivadas en la zafra 2005/2006 a 1.800.000 has en la zafra 2012/2013 (DIEA, 2013). Esto ha llevado a un aumento considerable del precio de la tierra pasando de precios que rondaban los 385 U$S/ha en el año 2002 a un promedio de 3478 U$S/ha en el año 2012 (DIEA, 2013).

En este nuevo contexto, los modelos de producción animal, deben apostar cada vez más a la intensificación de la producción, lo cual va de la mano con la optimización en la utilización de los recursos disponibles. Esto ha llevado, entre otros factores, a la necesidad de aumentar la concentración de nutrientes en las dietas y a la búsqueda de alternativas que permitan aumentar la eficiencia de conversión mediante mejoras de la calidad de los alimentos utilizados. Con este fin, el uso de alimentos concentrados (cuyo principal componente son los granos de cereales y sus subproductos), en la dieta de rumiantes, toma cada vez más importancia en nuestros sistemas de producción.

Una de las características sobresalientes de los granos de cereales, es que el componente en mayor proporción es el almidón. El almidón es un nutriente fundamental en las dietas de rumiantes para promover una alta producción (Theurer, 1986). El almidón se encuentra distribuido en los endospermos harinoso y córneo del grano (Mc Donald, 2006). La degradabilidad ruminal del almidón de los cereales no es igual, varía

Los taninos desde el punto de vista agronómico son muy valorados. Una de las ventajas que aportan estos compuestos, es la resistencia a la depredación de los pájaros, que se produce por la astringencia que le otorga la unión de los taninos a las proteínas. A su vez, los taninos determinan una reducción de la germinación pre cosecha ya que al encontrarse en la testa del grano, impiden la absorción del agua, atrasando la germinación. Además impiden la colonización de insectos haciendo que el cultivo se vea menos afectado por estos factores (Reed, 1995). Sin embargo, desde el punto de vista nutricional la presencia de taninos disminuye la calidad del grano (Russell y Lolley, 1989); ya que determinan la formación de complejos tanino-proteína que disminuye la disponibilidad de almidón afectando la digestibilidad del grano y su calidad nutricional (Maxson y col., 1973; Reed 1995; Curbelo, 2010). La presencia de estos compuestos puede disminuir del 10 al 30% la eficiencia alimentaria si lo comparamos con los sorgos sin taninos (Waniska, 2000). Según Chessa (2001) Si comparamos el valor alimenticio de un ensilaje de grano húmedo de maíz con uno de sorgo sin taninos, los valores serán muy similares. En nuestro país D´Alessandro y col. (1997) midiendo la digestibilidad de diferentes tipos de sorgo en cerdos, comunicó valores llamativamente bajos para los identificados como altos en taninos. Más recientemente otros trabajos realizados en el Departamento de Nutrición de la Facultad de Veterinaria reportan menores niveles de degradabilidad ruminal de genotipos altos en taninos respecto a los bajos (Curbelo y col., 2007), resultados que coinciden con los reportados por otros autores (Bianco y col., 2000; Caorsi y Olivera, 2005).

2.3. EFECTO DE TRATAMIENTOS SOBRE EL SITIO DE DIGESTIÓN DE LOS GRANOS EN RUMIANTES

Dada sus características propias, el grano de sorgo es el cereal con mayor potencial para incrementar su aprovechamiento digestivo mediante la aplicación de diversos procesamientos, tan es así que puede llegar a valores de digestibilidad similares al grano de maíz (Streeter y col., 1990). El procesado del grano de sorgo, aumenta la degradación ruminal del almidón (Poore, 1993). Este incremento, favorece al animal directamente, por un aumento en la energía disponible en rumen e indirectamente a través del aumento de la eficiencia de la flora microbiana ruminal, aumentando la proteína microbiana que llega al duodeno (Poore, 1993). Por otra parte Chessa (2001) sostiene que para obtener el máximo de aprovechamiento digestivo de los granos de sorgo se les debería realizar algún proceso.

Según Rooney y Plugfelder (1986), si se quiere aprovechar al máximo el potencial de alimentación la matriz proteica del endospermo del grano de sorgo debe ser interrumpida.

En general, el efecto del procesamiento esta en relación con la alteración que provoca en el grano. De esta forma, existen tratamientos como el quebrado: actúa mediante la ruptura del pericarpio y exposición del endospermo y el molido: disminuye además el tamaño de partícula incrementando la superficie de ataque (Huntington, 1997). Cuando el tratamiento es más intenso, se produce una ruptura de la matriz proteica como el que se da en el ensilado. Mientras que los procesos que involucran vapor y calor como el extrusado, provocan además la gelatinización del almidón (Hill y col., 1991; Huntington, 1997; Owens y Zinn, 2005). Huntington (1997) evaluando datos de digestibilidad del almidón de maíz y sorgo molidos, rolados, extrusado y con alto contenido de humedad, reporta que la digestibilidad en la totalidad del tracto es más elevada para el extrusado seguido por el grano húmedo (Tabla 1).

Tabla 1: Efecto del tratamiento sobre la digestibilidad del almidón en rumen e intestino de maíz y sorgo.

Grano	Procesamiento	kg/d almidón	Dig. Rumen	Dig. Intestino	% digerido en todo el tracto
MAIZ	aplastado	2,06	76,2	16,2	92,2
	extrusado	2.2	84,8	14,1	98,9
	ensilado	3,89	89,9	6,3	95,3
	molido	10,65	49,5	44	93,5
SORGO	aplastado	4,81	59,8	26,1	87,2
	extrusado	4,78	78,4	19,6	98,0
	ensilado	3,64	73,2	19,6	92,8
	molido	3,81	70,0	15,4	91,0

Tomado de Huntington, (1997).

2.3.1. EFECTO DEL ENSILAJE DE GRANO HÚMEDO SOBRE EL APROVECHAMIENTO DEL GRANO DE SORGO

Tradicionalmente existen dos momentos en la cosecha del grano de sorgo: una etapa temprana cuando el grano tiene un 25% o más de humedad y una etapa tardía cuando

el grano está seco (menos de un 16% de humedad). El estado de madurez influye sobre la degradabilidad ruminal de los cereales. En este sentido Akbar y col. (2002) reportan que a medida que aumenta el grado de madurez en distintas variedades de granos de maíz la degradabilidad del grano disminuye. A su vez otro estudio reportó una mayor degradabilidad de la materia seca de sorgos altos en taninos cuando fueron cosechado con un 35% de humedad respecto a los cosechados con 25% (Montiel y Elizalde, 2004). Hill y col. (1991) comparando el sitio y la magnitud de la digestión total de sorgos secos, ensilados o tratados con urea llegaron a la conclusión de que los procesamientos con mejores resultados fueron el ensilaje y el tratamiento con urea. La digestión ruminal y total del almidón, subió 19 y 8 puntos porcentuales respectivamente en el ensilado con respecto al seco, mientras que en el tratado con urea aumentaron 13 y 6 puntos porcentuales, respectivamente.

El silo de grano húmedo es un tratamiento de fácil aplicación que se realiza con el grano con una humedad entre 25 y 35 %. De acuerdo a datos relevados por varios autores, este tratamiento puede lograr incrementos en los valores de digestibilidad similares al que se logra por tratamientos industriales mucho más costosos como el steam flacked (Noeck y Tamminga, 1991; Owens y Zinn, 2005).El principal efecto que se logra con el ensilado de grano húmedo es la alteración de la matriz proteica (Owens y Zinn, 2005).

Los taninos se inactivan durante el almacenamiento anaeróbico (Curbelo, 2010) a moléculas de baja reacción con proteínas (Mitaru y col., 1984). Varios son los trabajos realizados a nivel nacional que reportan un aumento importante en la degradabilidad ruminal y en el aprovechamiento digestivo del grano de sorgo cuando se los cosecha en un estado de maduración temprana y se los ensila húmedos respecto a los mismos cuando son utilizados en un estado de maduración tardía como grano seco (Bianco y col., 2000; Caorsi y Olivera 2005; Curbelo, 2010). En este sentido Curbelo (2010) reporta incrementos de más de 20 puntos porcentuales en la degradabilidad ruminal y de 12 puntos en la digestibilidad total, cuando se compara la digestión de sorgos ensilados húmedos respecto a los mismos granos cosechados como grano seco. En el mismo sentido Bianco y col. (2000), concluyen que el ensilaje de grano húmedo en comparación con el grano seco aumenta la degradabilidad ruminal independientemente del contenido en taninos.

Estos resultados indican que el ensilado es una alternativa adecuada para incrementar el aprovechamiento digestivo de granos que presentan bajo aprovechamiento por parte del animal. Sin embargo, dado que la mayoría del grano de sorgo se comercializa bajo la forma de grano seco, surge la necesidad de profundizar en alternativas de tratamientos que permitan incrementar el valor nutritivo del grano de sorgo cuando se lo cosecha en un estado de maduración tardío como grano seco.

2.3.2. TRATAMIENTOS APLICADOS SOBRE GRANOS COSECHADOS SECO

2.3.2.1. TRATAMIENTOS EN SECO

El quebrado y/o molido es el procesamiento tradicional que se le realiza al grano de sorgo seco. Su objetivo primordial es la reducción del tamaño de la partícula y la rotura de las células del endospermo, así se facilita la colonización y posterior degradación del almidón en rumen. Según Bianco y col. (2000) por la acción mecánica de este tratamiento, se logra producir un cierto grado de gelatinización que aumenta la susceptibilidad a la hidrólisis enzimática.

El quebrado del grano consiste en el pasaje del mismo a través de dos rodillos. El tamaño de partícula varía dependiendo del peso, presión (espacio entre los rodillos) del contenido de humedad del grano y de la velocidad de pasaje del grano por los rodillos (Galyean, 1997). Mc Allister y col. (1993), en un estudio realizado con granos de maíz y cebada a los cuales se le aplico 2 tipos de molienda: una fina que dejaba al grano con un diámetro de 0,25 mm y otra molienda más gruesa obteniendo un grano con el diámetro de 2 mm, reportan que la cebada se degrado más que el maíz independientemente del tratamiento y que el molido fino determinó un aumento de la degradabilidad en ambos granos, siendo esta aún mayor para el grano de maíz.

2.3.2.2. TRATAMIENTOS HÚMEDOS

El remojado, germinado y/o reconstituido son tratamientos de fácil aplicación que se pueden realizar sobre el grano de sorgo. El reconstituido, consiste en agregar agua al grano seco hasta alcanzar una humedad de 25 a 35% y luego almacenado en condiciones de anaerobiosis durante 14 a 21 días (Balogun y col., 2005). Este tratamiento se ha propuesto como una forma de aumentar la degradabilidad del mismo. (Simpson y col., 1985; Rooney y Pflugfelder, 1986; Hill y col., 1991). Este tratamiento causa una degradación fermentativa de la matriz proteica del endospermo periférico, dejando disponible el almidón para la digestión (Rooney y Plugfelder, 1986). Sin embargo, el efecto de la reconstitución no es consistente. Hill y col. (1991) reportaron que el reconstituido a niveles de 28% de humedad y ensilado del grano mostró un aumento en la degradabilidad ruminal y en la digestibilidad en todo el tracto del almidón con respecto al grano seco. Sin embargo, Balogun y col. (2005) no encontró efectos del reconstituido sobre la degradación ruminal y la fermentación in vitro de sorgos reconstituidos. Por otra parte Hibberd (1985) en un estudio donde realizó la reconstitución al 30 % de humedad en muestras de sorgos (bajos y altos en taninos) reporta un aumento de la digestión ruminal y total de las variedades de sorgo bajas en taninos. Según este autor la fermentación del almidón digestible en rumen se

incrementó de 69,1 a 91,1 %; sin embargo la fermentación ruminal del almidón del sorgo alto en taninos no fue alterada por la reconstitución.

Simpson y col. (1985) sugieren que el remojado del grano es el factor que determina principalmente la respuesta a la reconstitución. Sin embargo, Balogun y col. (2005) no reportan cambios respecto al grano seco en la degradabilidad ruminal ni en la fermentación in vitro luego del remojado de granos de sorgo por 24 horas. Por otra parte, Huck y col. (1999), reportaron que las características de fermentación durante la reconstitución del sorgo mejoran su valor nutritivo, y la eficiencia de ganancia en vaquillonas de engorde, los efectos fueron mayores cuando el sorgo se reconstituyo a un 35% respecto a un 25 o 30 % de humedad.

Otros estudios han demostrado que la reconstitución incrementa el valor alimenticio del grano de sorgo en ganado de carne, esto se debe a una mayor degradabilidad de las proteínas presentes en el grano (Tonroy y col., 1974; Walker y Lichtenwalner, 1977).

Sullins y col. (1971) demostraron que los cambios que se produjeron en el endospermo del sorgo reconstituido (la interrupción de la matriz proteica con la subsecuente liberación de gránulos de almidón y cuerpos proteicos) fueron similares a los que se produce durante la germinación.

De acuerdo con Pflugfelder y col. (1986) la reconstitución del sorgo sin una previa fase aeróbica (germinación) resulta ineficaz en provocar cambios en la composición del grano que puedan llevar a un aumento en su digestibilidad. Sin embargo Simpson y col. (1985) reportaron que el remojado del grano no provocó cambios en la composición del grano pero determinó una mejora en la digestibilidad del grano similar a la obtenida para los granos reconstituidos. La germinación o germinación y ensilado del grano provoca la activación de enzimas que llevan a la hidrólisis de las proteínas del endospermo, lo que determina, incrementos en la solubilidad del nitrógeno y de los carbohidratos en los granos (Pflugfelder y col., 1986; Balogun y col., 2005 y 2006). En este sentido, algunos autores reportan que breves periodos de germinación antes de su almacenamiento anaeróbico parecen acelerar en gran medida la fermentación bacteriana del grano de sorgo lo que mejora la digestibilidad de éste en los rumiantes (Pflugfelder y col., 1986; Balogun y col., 2005). Es así que Hibberd y col. (1986) señalan al inicio de la germinación, como una posible causa de los fuertes aumentos en la solubilidad de la proteína en el grano de sorgo reconstituido después de un día de almacenamiento anaeróbico. En el mismo sentido Balogun y col. (2005 y 2006) comunican aumentos considerables en la degradabilidad de la materia seca, en la producción de gas total, en la producción de AGV y en la fermentación del almidón medida in vitro del grano de sorgo cuando este fue sometido a germinación durante 5 días o a germinación por 5 días y luego ensilado por 16 días.

Como se mencionó anteriormente varios son los trabajos realizados a nivel nacional que reportan un aumento importante en la degradabilidad ruminal y en el aprovechamiento digestivo del grano de sorgo cuando se los cosecha en un estado de maduración temprana y se los ensila húmedos en comparación a un grano se sorgo cosechado en un estado de maduración tardía (grano seco). Sin embargo, la mayoría del grano de sorgo que se comercializa por empresas, barracas, cooperativas y productores en el Uruguay es bajo la forma de grano seco. Dada la variabilidad en los resultados de los trabajos publicados previamente, no queda claro cuál etapa del proceso de reconstitución afecta el valor nutritivo del grano de sorgo. Con lo cual surge la necesidad de profundizar en el conocimiento de estos procesos. En el presente trabajo se pretende evaluar cómo la adición de agua, el proceso de germinado, el proceso de ensilado o sus asociaciones afectan la composición química y los parámetros de fermentación medidos in vitro de granos de sorgo cosechados secos.

3. HIPÓTESIS:

La aplicación de tratamientos húmedos al grano cosechado seco determinará cambios en la composición del grano que incrementan la fermentación in vitro en comparación con el grano seco.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de distintos tratamientos aplicados sobre granos de sorgo cosechado seco sobre, su composición química y la dinámica de producción de gas in vitro.

4.2. Objetivos particulares

1- Evaluar el efecto de distintos tratamientos aplicados en granos de sorgo cosechados seco sobre la composición química de los granos.

2- Evaluar como distintos tratamientos aplicados en granos de sorgo cosechados seco afectan la dinámica de producción de gas in vitro.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. DISEÑO Y MANEJO EXPERIMENTAL

El experimento fue realizado en la Unidad de Digestión y Metabolismo Ruminal de los Departamentos de Nutrición Animal y Bovino de la Facultad de Veterinaria (UdelaR), situado en el Campo Experimental Nº2 (Libertad, San José). El protocolo experimental se realizó de acuerdo a las recomendaciones del Comité de Honorario de Experimentación Animal (CHEA, Udelar).

Sobre 5 muestras de sorgo de chacras comerciales (BMR 1000, Flash 1, Flash 10, 3034 y Joward food; IPB, San José, Uruguay) cosechadas en un estado de maduración tardía (grano seco), se aplicaran seis tratamientos distintos:

Tratamiento 1: Grano seco (GS, control)

Tratamiento 2: Grano remojado por 24 horas (GR)

Tratamiento 3: Grano germinado por 5 días (GG)

Tratamiento 4: Grano germinado por 5 días y ensilado por 21 días (GGE)

Tratamiento 5: Grano reconstituido como grano entero y ensilado por 21 días (REE)

Tratamiento 6: Grano reconstituido como grano molido y ensilado por 21 días (REM)

La composición química de las muestras de sorgo utilizadas en el experimento se presentan en la tabla 2. Para el tratamiento 1, el grano fue utilizado sin ningún tratamiento previo. Para el remojado se utilizaron cantidades iguales de grano de sorgo entero seco y agua, estas se mezclaron y luego de 24 horas el excedente de agua fue drenada para utilizar el grano. Para los tratamientos 3, 4 y 5 la humedad de los granos enteros fue llevada a 30% por el agregado de agua, luego según el tratamiento aplicado los granos fueron mantenidos en condiciones de aerobiosis por 5 días (tratamiento 3, GG), en aerobiosis por 5 días y luego en anaerobiosis por 21 días (tratamiento 4, GGE), en anaerobiosis por 21 días con el grano entero (tratamiento 5, REE). Para el tratamiento 6 (REM) el grano fue previamente molido y luego reconstituido a un 30% de humedad por el agregado de agua almacenándose en anaerobiosis por 21 días. El ensilaje se realizó en recipientes plásticos de 5 kg de capacidad. El material dentro del recipiente fue comprimido en forma manual, luego los recipientes se cerraron con tapa hermética y se mantuvieron durante 21 días. Para cada tratamiento se realizaron tres repeticiones. Luego de realizados los tratamientos las muestras de cada tratamiento y repetición fueron congeladas para su posterior análisis. Para su uso las muestras de cada tratamiento y repetición fueron secadas (60°C por 48h) y molidas a 1 mm. La

composición química y la producción de gas in vitro fueron determinadas para cada tratamiento y repetición.

Procedimientos y Determinaciones:

Análisis químicos: Sobre todas las muestras se determinó el contenido de materia seca (MS) por secado a 105°C hasta peso constante (Método 7.003; AOAC, 1997). El contenido de cenizas se determinó por combustión a 600°C por dos horas (Método 7.009; AOAC, 1997) y el contenido de materia orgánica (MO) se determinó por diferencia. El contenido de nitrógeno se determinó por el método de kjeldahl (Método 984.13; AOAC, 1997). La fibra neutro detergente (FND) se determinó de acuerdo con 0 H U W H Q V -amilasa termostable, el resultado se expresa incluyendo el contenido de cenizas residual. El contenido de fibra ácido detergente (FAD) se determinó de acuerdo al método 973.18 de AOAC (1997). El contenido de Almidón se determinó mediante hidrólisis enzimática usando un kit comercial (K_TSTA 07/11, Megazyme International Ireland, Irlanda). El contenido de taninos condensados se midió según el método propuesto por Makkar (2000). Todos los análisis se realizaron por duplicado aceptando coeficientes de variación del 5%.

Producción de gas in vitro: La producción de gas in vitro se realizó mediante la técnica descripta por Mauricio y col. (1999). Se pesaron 0,5 g de sustrato y fueron colocados en frascos de fermentación de 125 ml. A cada frasco se añadió un volumen total de 40,5 ml de un medio sin ácidos grasos volátiles ni vitaminas (Mould y col., 2005). A continuación los frascos se taparon con tapón de goma y fueron refrigerados (4°C) durante 12 h antes de la inoculación para hidratar el sustrato. Previamente a la inoculación los frascos fueron colocados a baño María a 39,5°C, donde se mantuvieron por todo el período de mediciones. Cada muestra se incubó en dos corridas consecutivas (duplicado).

El inóculo de líquido ruminal fue obtenido de 3 novillos holando (405 ± 10 kg de peso corporal) provistos de cánula ruminal e intestinal. Los animales estaban alimentados con una dieta compuesta por 2/3 de henolaje de avena y 1/3 de un concentrado a base de sorgo molido. La dieta contenía (en base seca) 138 g / kg de PB, 415 g / kg de FND y 251 g / kg FAD. El concentrado se distribuyó en dos comidas iguales por día. El líquido ruminal se colectó de cada uno de los tres animales 4 horas después de la suplementación de la mañana, se realizó un pool y se utilizó inmediatamente.

En cada frasco se inoculó 10 ml de líquido ruminal luego se tapó con tapón de goma y se selló con precintos de aluminio. Todas las manipulaciones se realizaron bajo una corriente de CO2. La presión de gas se midió en unidades psi a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 48, 72 y 96 h después de la inoculación usando un manómetro digital (Sper Scientific Ltd., Scottsdale, EE.UU.). Luego de cada medición el gas acumulado se liberó. La

presión de gas registrada se transformó a volumen de gas (mL), de acuerdo a la ecuación:

$V = 4.40\ P + 0.09\ P^2$ (R^2=0.998)

donde la V representa el volumen de gas en mL y P la presión medida en psi.

El volumen de gas acumulado durante la fermentación se relacionó con la MS incubada. Los datos de producción de gas acumulado se ajustaron al modelo propuesto por Groot y col. (1996):

$$G = A / [1+ (B/t)^{C}]$$

donde G es el total de gas producido (mL/g); A es la producción de gas asintótica (mL/g); B es el punto de inflexión de la curva; C es el tiempo en el cual se forma la mitad del gas asintótico ($t_{½}$; h) y t es el tiempo (h). La tasa máxima de fermentación (R_{max}; mL/h) y el tiempo en el que ocurre ésta (T_{max}; h) se calcularon de acuerdo con Baurer y col (2001):

$$R_{max} = (A * C^{B}) * B * [T_{max}^{(-B-1)}] / [1 + C^{B}) * (T_{max}^{-B})^2]$$

$$T_{max} = C * [(B-1) / (B+1)^{(1/B)}]$$

<u>Análisis estadístico:</u> Los datos fueron analizados por ANOVA utilizando el procedimiento Mixto SAS (SAS 9.0V, SAS Institute Inc., Cary, NC), de acuerdo al siguiente modelo:

$Y_{ij} = \quad + T_i + M_j + e_{ij}$,

donde es la media poblacional, T_i es el efecto fijo del tratamiento (i = GS, GR, GG, GGE, REE y REM), M_j es el efecto aleatorio de muestra de sorgo (j= BMR 1000, Flash 1, Flash 10, 3034 o Joward Food) y e_{ij} es el error residual. Para el análisis de los parámetros de producción de gas el efecto aleatorio de la corrida también fue incluido. Las medias fueron comparadas por el test de Tukey. Se consideraron diferencias

significativas cuando P ” y tendencias cuando 0.05 < P ” / R V U H V X O W D G R V presentan como las medias ± error estándar de las medias

Tabla 2: Composición química de las muestras de sorgo

	J. Food	3034	Flash 1	Flash10	BMR1000
MS (g/kg)	897±2,2	892±1,6	898±0,1	891±0,3	899±1,0
Composición, (g/kg MS)					
MO	987±0,5	986±0,4	988±0,1	985±0,1	987±0,3
Almidón	724±1,8	660±12,5	684±4,7	727±5,8	732±5,5
N	13,7±0,41	12,6±0,51	12,9±0,49	13,8±0,58	14,0±0,25
FND	76,9±5,74	138±13,1	112±10,8	111±4,6	159±21,6
FAD	25,2±2,19	47,9±1,24	51,9±0,02	37,7±2,82	49,8±3,50
TC	0,943±0,8623	9,49±0,579	13,0±0,38	0,688±0,4833	9,85±0,533

[a]MS, Materia seca; MO, materia orgánica; N, nitrógeno; FND fibra neutro detergente analizada con una amilasa estable al calor y se expresada incluyendo cenizas residuales; FAD, fibra ácido detergente incluyendo cenizas residuales; TC, taninos condensados. Datos presentados como medias ± DS (n = 3).

6. RESULTADOS

6.1. Composición química

La composición química resultante de los distintos tratamientos aplicados en este experimento se muestra en la tabla 3. Como era de esperar, el contenido de materia seca de las muestras reconstituidas (GG, GGE, REE y REM) fue del entorno a 700g/kg, estos tratamientos tuvieron aproximadamente un 22% menos de MS que el grano seco (P<0,05, Tabla 3). El remojado resultó el tratamiento con menor contenido de MS (633 ± 4,1 g/kg, Tabla 3).

El contenido de materia orgánica no difirió entre el grano seco, remojado y reconstituido y ensilado entero, sin embargo el germinado, germinado y ensilado y reconstituido y ensilado molido presentaron menor contenido de MO que la muestra control (P<0,05, Tabla 3). Comparado con el tratamiento control, el contenido de almidón se mantuvo para el reconstituido y ensilado molido y el germinado pero disminuyo en el resto de los

tratamientos (P<0,05, Tabla 3). El germinado determinó un aumento en el contenido de N (P<0,05) sin embargo, no se detectaron diferencias entre los demás tratamientos. No se detectaron diferencias para FAD. Los tratamientos reconstituido y ensilado (tanto con grano entero como molido) disminuyeron significativamente la concentración de taninos condensados de los granos (P<0,05, Tabla 3). Dentro de los tratamientos que incluyeron fermentación, el reconstituido y ensilado molido presentó mayores niveles de pH respecto al germinado y ensilado y al reconstituido y ensilado entero (5,33 vs 4,49 ± 0,11 respectivamente).

Tabla 3: Composición química del grano seco (GS, control), remojado durante 24h (GR), germinado por 5 días (GG), germinado por 5 días y ensilado por 21 días (GGE), reconstituido como grano entero y ensilado por 21 días (REE) y reconstituido como grano molido y ensilado por 21 días (REM)

	GS	GR	GG	GGE	REE	REM	EEM
MS (g/kg)	896a	633d	732b	688c	694c	689c	4,1
Composición, (g/kg DM)							
MO	986a	986a	985bc	985bc	985ab	984c	0,7
Almidón	705a	619b	638ab	530c	613b	673ab	16,1
N	13,4bc	13,0c	14,5 a	13,6bc	13,1c	14,0ab	0,29
FAD	42,5	40,5					