

EFFECTOS DE CAMBIOS EN LA DIETA Y LA ADICIÓN DE LEVADURAS SOBRE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA RUMINAL DE TERNERAS

Moya, D., Calsamiglia, S., Ferret, A., Fandiño, J.I., Castillejos, L. y Yoon, I.
Fac. de Veterinaria, Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra, 08193.
sergio.calsamiglia@uab.es

INTRODUCCIÓN

Con un incremento brusco de los carbohidratos no fibrosos en la ración, se favorecen las poblaciones bacterianas amilolíticas y productoras de láctico (como *Streptococcus bovis*) en detrimento de las consumidoras de láctico (como *Megasphaera elsdenii*), con la consecuente acumulación de ácidos en el rumen y la aparición de acidosis (Nagaraja y Titgemeyer, 2007). Además, también aumenta la viscosidad del líquido ruminal y, por tanto, el riesgo de desarrollar timpanismo (Cheng et al., 1998). Estudios previos muestran que la aparición de un trastorno digestivo depende, entre otros, de factores individuales. Sin embargo, no se han analizado qué parámetros pueden ayudar a predecir la aparición de acidosis y/o timpanismo en un mismo estudio. Por otro lado, la adición de cultivo de levaduras podría estabilizar la fermentación ruminal, previniendo trastornos digestivos o facilitando su recuperación, al estimular específicamente bacterias fibrolíticas y consumidoras de láctico como *M. elsdenii* (Callaway y Martin, 1997).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 12 terneras Holstein (277 ± 28 kg PV) con cánula ruminal en un diseño de crossover de 2 periodos de 5 semanas. En cada periodo, tras 3 semanas de adaptación con una dieta 100% forrajera, la inducción del trastorno digestivo empezó aumentando la cantidad de concentrado 2,5 kg MF/d durante un periodo de 4 días, hasta alcanzar una proporción 10:90 de forraje:concentrado, para luego mantenerla durante 10 días. La ración se ofrecía diariamente a las 0900 h y se retiraba a las 2100 h para forzar un consumo más rápido a la mañana siguiente tras 12 horas de ayuno. Entre periodos los animales se alimentaron otra vez con la dieta 100% forrajera sin ningún tratamiento. El concentrado fue formulado para alcanzar o exceder los requerimientos de energía y PB de terneros de engorde (NRC, 1996), aunque la proporción de carbohidratos no fibrosos fue intencionadamente alta (54,3%). Los tratamientos empezaron el primer día de cada periodo, y fueron una dieta control (CT) o la misma dieta con la adición del cultivo de levaduras (LV, Diamond V XPCLS™). La aparición de trastornos digestivos se determinó mediante la observación visual de timpanismo (Paisley y Horn, 1998) o por una reducción de la ingesta del 50% o más respecto al día anterior. Siguiendo las instrucciones del Comité de Bienestar Animal, cuando se detectaba un caso de trastorno digestivo, el animal afectado se cambiaba a la dieta 100% forrajera sin ningún tratamiento para procurar su recuperación. Durante la inducción del trastorno digestivo, se determinó la ingesta diariamente a las 2, 6 y 12 h post alimentación, y se tomaron muestras de líquido ruminal cada día para determinar el pH ruminal a las 0, 3, 6 y 12 h post alimentación, y los AGV totales e individuales, ácido láctico, N amoniacal, viscosidad del líquido ruminal y cuantificar las poblaciones de *Streptococcus bovis* y *Megasphaera elsdenii* mediante PCR cuantitativa a las 0 y 6 h post alimentación. También se determinó la espumosis y la resistencia de la espuma del líquido ruminal el día después de la aparición del trastorno digestivo para evaluar el poder espumante del líquido ruminal. Para reducir el volumen de muestras a analizar, se tomó el día en que aparecía el trastorno digestivo como referencia y se analizaron los tres días anteriores, el día del trastorno, y 1, 2 y 5 días posteriores. En cuanto a las muestras de PCR, sólo se analizaron las correspondientes a 3 días anterior y al día del trastorno digestivo. Los datos se analizaron como un split-split plot usando el procedimiento MIXED de SAS para medidas repetidas, incluyendo el periodo, la secuencia, el día, la hora y el tratamiento en el modelo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se encontraron efectos ($P > 0,10$) del periodo o la secuencia, ni interacciones entre el tiempo (horas o días) y el tratamiento, por lo que ambos efectos se discuten por separado.

Inducción del trastorno digestivo: El modelo propuesto logró causar un total de 20 casos (83,3%) de trastornos digestivos, todos detectados por una reducción del 50% o más en la

ingesta, por lo que no se observaron signos de timpanismo. Estos trastornos aparecieron de media a los $7,00 \pm 0,62$ d. Los días previos al trastorno digestivo, el pH ruminal descendía ($P < 0,01$) a las 12 h post alimentación, pero se recuperaba tras las 12 h de ayuno (Tabla 1). Sin embargo, el día del trastorno digestivo a las 0 h el pH no se había recuperado, siendo inferior al resto de los días ($P < 0,05$), y permaneciendo tras más de 18 h por debajo de 6,0. Posiblemente ésta fue la causa de la reducción en la ingesta. La concentración total de AGV fue superior ($P < 0,05$) el día del trastorno digestivo a las 0 h que el resto de días a la misma hora, lo que explicaría la falta de recuperación del pH previamente comentado. También encontramos un aumento ($P < 0,05$) en la concentración de ácido láctico el día del trastorno digestivo a las 0 y 6 h post alimentación comparado con el resto de días, probablemente también relacionado con el bajo pH encontrado el día del trastorno. Sin embargo, no todas las terneras afectadas mostraron este aumento de ácido láctico. Sólo en un 25% de los casos a las 0 h y un 10% a las 6 h post alimentación mostraron una concentración de láctico superior a 1,5 mM, lo que sugiere que su implicación en el desarrollo de un trastorno digestivo probablemente este sobrevalorado.

La población de *S. bovis* aumentó ($P < 0,05$) el día del trastorno digestivo comparado con 3 días anteriores a éste, coincidiendo con el aumento en la concentración total de AGV y de láctico (Tabla 1). Sin embargo, la población de *M. elsdenii* también tendió a aumentar ($P < 0,10$) el día del trastorno digestivo, aunque no se reflejó en una reducción de la concentración de láctico. Esto sugiere que quizás el papel de *M. elsdenii* como utilizador de láctico durante el desarrollo de un trastorno digestivo no sea determinante, aunque sería necesaria más investigación en este sentido.

La viscosidad del líquido ruminal fue mayor ($P < 0,05$) el día del trastorno digestivo a las 0 y 6 h respecto a 3 y 2 días anteriores y los días posteriores al trastorno, coincidiendo con el aumento de la población de *S. bovis*, tal y como mostró Cheng et al. (1976). Sin embargo, no pudimos confirmar si este aumento en la viscosidad acabaría desarrollando timpanismo ya que, siguiendo las instrucciones del Comité de Bienestar Animal, los animales cambiaban a una ración 100% forrajera al día siguiente de diagnosticarles el trastorno digestivo

Efectos del cultivo de levaduras durante la inducción del trastorno digestivo: La adición de LV no afectó ($P > 0,10$) al número de casos de trastornos digestivos (se registraron 10 casos por tratamiento), ni al tiempo en que éstos aparecían (7,00 d, EEM = 0,85).

Salvo alguna interacción puntual con la hora post ingestión (datos no mostrados), LV tampoco afectó ($P > 0,10$) la ingesta (7,27 kg, EEM = 0,39), el pH (6,27, EEM = 0,05), la concentración total de AGV (104,8 mM, EEM = 3,41), la concentración de láctico (2,03 mM, EEM = 0,83), las poblaciones de *S. bovis* (11,7 Log copias/mL, EEM = 0,32) o *M. elsdenii* (3,81 Log copias/mL, EEM = 1,08), ni la viscosidad del líquido ruminal (5,37 cP, EEM = 0,34).

Aunque la adición de LV no afectó ($P > 0,10$) la espumidad del líquido ruminal (17,2 cm, EEM = 1,88), sí redujo ($P < 0,05$) la resistencia de la espuma (CT = 32,3 min; LV = 12,1 min; EEM = 5,86). Aunque en este estudio no se encontraron síntomas de timpanismo, esta reducción de la espumidad sugiere efectos potenciales de LV en la reducción del riesgo de timpanismo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Callaway, E. S., S. A. Martin. 1997. J. Dairy Sci. 80:2035-2044.
- Cheng, K. J., R. Hironaka, G. A. Jones, T. Nicas, J. W. Costerton. 1976. Can. J. Microbiol. 22:450-459.
- Cheng, K. J., T. A. McAllister, J. D. Popp, A. N. Hristov, Z. Mir, H. T. Shin. 1998. J. Anim. Sci. 76:299-308.
- Nagaraja, T. G., E. C. Titgemeyer. 2007. J. Dairy Sci. 90:17-38.
- NRC. 1996. 7th ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Paisley, S. L., G. W. Horn. 1998. Oklahoma State Univ., Anim. Sci. Res. Rep.141-146.

Tabla 1. Efecto de la inducción del trastorno digestivo sobre la fermentación ruminal.

Variable	Día						
	-3 d	-2 d	-1 d	0 d	1 d	2 d	5 d
pH ruminal ¹							
Hora 0	6,67 ^{a,y}	6,54 ^{a,y}	6,47 ^{a,y}	5,95 ^{b,z}	7,01 ^{a,x}	7,01 ^{a,x}	7,02 ^{a,x}
Hora 3	6,10 ^{b,z}	6,12 ^{b,z}	6,09 ^{b,z}	6,24 ^{a,z}	6,48 ^{b,y}	6,68 ^{b,x}	6,45 ^{b,y}
Hora 6	5,93 ^{c,z}	5,86 ^{c,z}	5,76 ^{c,z}	6,33 ^{a,y}	6,40 ^{b,c,xy}	6,53 ^{c,x}	6,44 ^{b,xy}
Hora 12	5,62 ^{d,z}	5,61 ^{d,z}	5,47 ^{d,z}	6,06 ^{b,y}	6,30 ^{c,x}	6,28 ^{d,x}	6,20 ^{c,xy}
AGV totales, mM ²							
Hora 0	107,3 ^{b,x}	111,3 ^{b,x}	117,6 ^{b,wx}	125,0 ^{a,w}	76,3 ^{b,z}	75,9 ^{b,z}	89,6 ^{b,y}
Hora 6	127,4 ^{a,w}	130,8 ^{a,w}	131,3 ^{a,w}	94,3 ^{b,xy}	91,6 ^{a,xy}	87,6 ^{a,y}	100,2 ^{a,x}
Láctico, mM ³							
Hora 0	0,99 ^x	1,01 ^x	1,21 ^x	10,3 ^{a,w}	1,06 ^x	0,89 ^x	0,96 ^x
Hora 6	1,07 ^x	1,20 ^x	1,19 ^x	5,34 ^{b,w}	1,16 ^x	1,10 ^x	1,03 ^x
<i>S. bovis</i> ⁴	11,5 ^x	-	-	11,9 ^w	-	-	-
<i>M. elsdenii</i> ⁵	2,88	-	-	4,74	-	-	-
Viscosidad, cP ⁶							
Hora 0	7,29 ^{a,x}	7,95 ^{a,x}	8,53 ^{a,wx}	10,3 ^{a,w}	6,56 ^{a,x}	4,11 ^{a,xy}	3,84 ^{a,y}
Hora 6	3,90 ^{b,xy}	4,49 ^{b,x}	4,79 ^{b,x}	6,61 ^{b,w}	2,66 ^{b,yz}	2,12 ^{b,z}	1,99 ^{b,z}

¹ Efecto hora, $P < 0,01$; día, $P < 0,01$; e interacción hora por día, $P < 0,01$. EEM = 0,084.

² Efecto hora, $P < 0,01$; día, $P < 0,01$; e interacción hora por día, $P < 0,01$. EEM = 4,80.

³ Efecto hora, $P = 0,15$; día, $P = 0,01$; e interacción hora por día, $P < 0,01$. EEM = 1,60.

⁴ Efecto hora, $P = 0,47$; día, $P = 0,048$; e interacción hora por día, $P = 0,54$. EEM = 0,28.

⁵ Efecto hora, $P = 0,4$; día, $P = 0,06$; e interacción hora por día, $P = 0,56$. EEM = 0,97.

⁶ Efecto hora, $P = 0,09$; día, $P = 0,37$; e interacción hora por día, $P = 0,07$. EEM = 0,64.

^{a, b, c, d} Medias por variable con diferente superíndice en la misma columna son diferentes ($P < 0,05$).

^{w, x, y, z} Medias por variable con diferente superíndice en la misma fila son diferentes ($P < 0,05$).

Agradecimientos: Este trabajo ha sido cofinanciado por Diamond V Mills, Inc.

EFFECTS OF DIETARY CHANGES AND YEAST CULTURE ON RUMEN MICROBIAL FERMENTATION OF HEIFERS

ABSTRACT: Twelve heifers with ruminal cannula were used in a crossover design with 2 periods of 5 weeks: 3 weeks with a 100% forage diet and 2 weeks with a 10:90 forage to concentrate diet. Treatments were a control diet (CL) or the same diet with yeast culture (YC, Diamond V XPC_{LS}TM). Digestive upsets were determined by a reduction in feed intake of 50% or more. Feed intake was determined daily at 2, 6, and 12h post-feeding. Ruminal liquid samples were collected daily at 0 and 6h post-feeding to determine ruminal pH, total and individual VFA, lactic acid, ammonia-N and rumen fluid viscosity. *Streptococcus bovis* and *Megasphaera elsdenii* were quantified by qPCR. Foam height and strength were determined the day after the digestive upset. A total of 20 cases (83.3%) of digestive upsets were recorded in both periods. Rumen fermentation profile on the digestive upset day was characterized by low ruminal pH and high total VFA concentration, accompanied in some cases by high lactate concentration. Addition of YC did not affect the incidence or time (7.00 ± 0.62d) to cause the digestive upset. However, YC reduced ($P < 0.05$) the foam strength on the day after the digestive upset.

Keywords: Heifer, Rumen Fermentation, Digestive Upset, Yeast Culture