

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA AUSENCIA DE PROTOZOARIOS Y EL TIPO DE RACION SOBRE LA FERMENTACION Y SINTESIS MICROBIANA EN EL RUMEN.

Belanche, A., de la Fuente, G. y Balcells, J.

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, C/Miguel Servet 177, 50013, Zaragoza, España.
belanche@unizar.es

INTRODUCCIÓN

Los protozoos pueden representar el 50% de la masa microbiana ruminal y su actividad predatoria puede incrementar sustancialmente el reciclaje de nitrógeno en el rumen (Eugène et al., 2004). A pesar de su importancia, su efecto sobre el ecosistema ruminal y particularmente su contribución a la digesta duodenal ha sido escasamente analizada dadas las dificultades metodológicas que implica su determinación. Los datos existentes proceden, bien de ensayos “*in vitro*”, en los cuales el comportamiento de los ciliados puede verse alterado por las condiciones ambientales inducidas, o bien de estudios “*in vivo*”, en los cuales el efecto de los protozoos se ha establecido por comparación respecto a animales defaunados. Dicha eliminación de los protozoos ruminales se ha realizado mediante diferentes procedimientos cuya agresividad sobre el ecosistema ruminal ha sido fehacientemente demostrada (William y Coleman, 1992). Una alternativa a los procesos agresivos de defaunación es el aislamiento del animal, tras su nacimiento, de cualquier fuente de potencial de contaminación protozoaria. Por tanto, el objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto que la ausencia o la presencia de protozoos ruminales y el tipo de dieta sobre diversos parámetros de la fermentación ruminal, en especial sobre la eficiencia de síntesis de proteína microbiana.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente ensayo se utilizaron veinte corderos de la raza Rasa Aragonesa procedentes de partos dobles. Uno de los gemelos fue aislado de la madre tras el parto y criado en un ambiente libre de protozoos (Defaunado), y el segundo se utilizó como control y permaneció con el rebaño para asegurar una correcta colonización protozoaria. A los 6 meses de edad ambos grupos de corderos (Defaunado y Control) fueron divididos aleatoriamente en dos sub-lotes que fueron alimentados con dos raciones experimentales ($n=5$, 3 machos y 2 hembras; recibiendo ambos hermanos el mismo tipo de dieta). Las raciones consistieron en 100% heno de alfalfa o 50%-50% heno de alfalfa-cebada molida y en ambas raciones fueron suministradas a un nivel de 1,5 veces mantenimiento (AFRC, 1993). Los corderos fueron alojados en jaulas metabólicas y tras 15d de adaptación se determinó la digestibilidad aparente (7 días de balance, d16-d23) y la ruminal utilizando los n -alcanos como marcadores de flujo (Mayes et al., 1988). La síntesis microbiana se estimó mediante el uso de ^{15}N (42.7 mg $^{15}\text{N}/\text{d}$ distribuidos en 4 dosis: 2:00, 8:00, 14:00 y 20:00h) que fue administrado los 5 días previos al sacrificio (d19-d23). Los animales fueron sacrificados (d23) con Tiopental (10mg/kg PV) para proceder al muestreo de contenido digestivo: rumen, abomaso y duodeno. Tras determinar el pH, el contenido ruminal fue filtrado a través de dos capas de gasa y ambas fracciones, líquida y sólida se destinaron al aislamiento de las bacterias asociadas cada fracción (Martín-Orúe et al., 1998). La fracción líquida también fue utilizada para determinar la concentración ruminal de amonio (Charney y Marbach, 1962), ácidos grasos volátiles (AGV) (Jouany, 1982) y protozoos ruminales (Dehority, 2003). Tanto los extractos microbianos como el contenido abomasal fueron liofilizados para determinar su contenido en nitrógeno (N), N-no amoniacal (NNA) y ^{15}N , siendo este último corregido en función de su abundancia natural las diferentes muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tanto los animales sin protozoos como los control mostraron un estado saludable durante todo el ensayo y no se detectaron diferencias en sus ritmos de crecimiento (273 g/d) durante la fase de cebo (entre los 45d y 90d). No obstante, los corderos que recibieron alfalfa presentaron una mayor ingestión de materia seca (MS) que los que recibieron una dieta mixta (881 vs. 721 g/d, $P<0,01$), aunque las diferencias no se reflejaron en la cantidad de materia orgánica digestible ingerida (MODI). La mayor digestibilidad de la dieta mixta (60 vs. 74%, $P<0,001$) compensó las diferencias en la ingestión de MS y MO. La presencia de

protozoos incremento la digestibilidad aparente de la MS en el tracto digestivo (66 vs. 68%, $P<0,05$) siendo estas diferencias especialmente manifiestas en los componentes fibrosos (incremento del 5,1% la FND y del 4,0% la FAD). La presencia de protozoos no incremento de forma significativa la digestibilidad ruminal aparente (43,6 vs. 42,2%, $P=0,40$) ni real (51,4 vs. 50,1%, $P=0,43$) dado el incremento manifiesto de la variación experimental.

Tabla 1. Efecto de la defaunación y la dieta sobre la ingestión, digestibilidad y la fermentación ruminal de corderos.

	Control		Defaunados		SEM <i>n</i> =5	Significación		
	Alfalfa	Mixta	Alfalfa	Mixta		Prot.	Dieta	PxD
Ingestión (g/d)								
MO	809	712	776	641	50,0	ns	*	ns
MOD	499	530	456	471	36,7	ns	ns	ns
Dig. Aparente (%)								
MO	61,5	74,3	58,5	73,4	0,79	*	***	ns
FND	50,2	48,1	43,4	44,7	1,42	**	ns	ns
FAD	50,2	43,4	44,2	41,5	1,41	*	**	ns
Dig. Ruminal MO (%)								
Aparente	37,9	49,3	39,4	45,1	1,57	ns	***	T
Real	44,8	57,9	46,6	53,6	1,53	ns	***	T
Parámetros ruminales								
pH	6,79 ^a	5,50 ^c	6,82 ^a	6,03 ^b	0,06	***	***	***
NH ₃ (mg/l)	103,9	136,1	78,1	1,8	26,2	**	ns	T
AGV totales (mM)	122,8	121,6	92,5	74,2	11,5	**	ns	ns
Proporciones (%)								
Acetato	77,6 ^a	66,1 ^b	82,7 ^a	56,6 ^c	2,27	ns	***	**
Propionato	15,0 ^b	19,1 ^{ab}	9,12 ^c	21,5 ^a	1,57	ns	***	*
Butirato	5,4	12,0	6,7	18,2	2,16	ns	***	ns
Acetato/Propionato	5,2 ^b	3,5 ^c	9,1 ^a	2,6 ^c	0,39	**	***	***
Protozoos (x10 ⁵)	0,37	13,9			2,26		**	

No se detectaron protozoos en los animales defaunados, mientras que la suplementación con concentrado incremento notablemente la concentración ruminal de los mismos en el grupo control ($3,7 \times 10^4$ vs. $1,4 \times 10^6$ células/ml; $P<0,01$). La ausencia de protozoos modificó la fermentación ruminal, reduciendo la concentración de AGV (122 vs. 83 mM; $P<0,01$) y de amonio (120 vs. 40 mg/l, $P<0,01$), descenso que reflejaría el incremento en los ritmos de reciclaje de proteína microbiana debido a la presencia de protozoarios (Eugène et al., 2004). El perfil de AGV fue también afectado, tanto por la presencia de protozoos como por la dieta, mostrando la máxima y mínima relación acetato/propionato en los animales defaunados alimentados con dietas forrajeras y mixtas respectivamente (2,6 vs. 9,1; $P<0,001$). En relación al metabolismo proteico, los animales alimentados con dietas a base de alfalfa presentaron una mayor ingestión de nitrógeno (21,5 vs. 15,4 g/d, $P<0,01$) y un mayor flujo abomasal de NNA (14,4 vs. 11,1 g/d, $P=0,067$), sin embargo el flujo abomasal de proteína microbiana no se vio afectado por los tratamientos experimentales, aunque éstos sí que modificaron la composición química de los extractos microbianos utilizados como referencia. En términos de eficiencia de síntesis (g/kg MO Realmente Digerida en el Rumen (MORDR)), la ausencia de protozoos no indujo un mejora significativa, mientras que los animales que ingirieron la dieta forrajera mostraron una mayor eficiencia síntesis que aquellos que recibieron una dieta mixta utilizado las bacterias asociadas al líquido (BAL) como extracto de referencia (18,1 vs. 16,3; $P<0,05$). Cuando la eficiencia se refirió a las bacterias asociadas al sólido (BAS) sólo se observó dicho efecto en el grupo control (19,1 vs. 16,3; $P<0,05$).

En conclusión, la ausencia de protozoos redujo la digestibilidad de la ración, sin embargo no mejoró ni la producción microbiana ni su eficiencia de síntesis cuando ésta se determinó utilizando ^{15}N como marcador microbiano.

Tabla 2, Efecto de la defaunación y la dieta sobre el flujo abomasal de nitrógeno microbiano y la eficiencia de síntesis estimada mediante ^{15}N .

	Control		Defaunados		SEM <i>n</i> =5	Significación		
	Alfalfa	Mixta	Alfalfa	Mixta		Prot.	Dieta	PxD
N-Ingerido (g/d)	21,5	16,2	21,6	14,6	2,08	ns	**	ns
Flujo abomasal (g/d)								
NNA	14,6	10,6	14,2	11,5	1,70	ns	T	ns
N-Microb. (BAL)	6,5	6,3	6,3	5,9	0,63	ns	ns	ns
N-Microb. (BAS)	7,0	6,9	6,3	6,6	0,66	ns	ns	ns
Eficiencia de síntesis								
gN/kg MODR								
BAL	21,8	18,3	21,1	20,3	1,17	ns	T	ns
BAS	23,2	19,9	21,2	22,7	1,21	ns	ns	T
gN/kg MORDR								
BAL	18,4	15,5	17,8	17,1	0,85	ns	*	ns
BAS	19,1 ^a	16,3 ^b	17,4 ^{ab}	18,2 ^{ab}	0,84	ns	ns	*

T, P<0,10

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFRC, 1993. CAB International, Wallingford. Oxion, U.K. ●Chaney, A.L. & Marbach, E. 1962, *Clinical Chemistry*, 8: p, 130-132 ●Jouany, J.P. 1982., *Science Alimentaria*, 2: p, 131-144 ●Dehority, B.A. 2003, Rumen Microbiology. *Nottingham University Press, Nottingham, UK* ●Eugène, M., Archimède, H. & Sauvant, D. 2004, *Liv, Prod, Sci*, 85(1): p, 81-97 ●Martín-Orúe, S.M., Balcells, J., Zakraoui, F. & Castrillo, C. 1998, *An.F.Sc.Tec*, 71: p, 269-282 ●Mayes, R.W., Lamb, C.S. & Colgrove, P.M. 1988, *Proceedings of the 12th General Meeting of the European Grassland Federation, Dublin, Ireland*. ●Williams, A.G. & Coleman, G.S. 1992. The rumen protozoa, Springer-Verlag, New York xii, 441.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido cofinanciado por el CICYT (AGL 2004-02910/GAN) y el primer autor recibió una beca FPU del Ministerio de Educación y Ciencia y agradece a Maricarmen García su colaboración.

EFFECT OF DEFAUNATION AND DIET ON RUMEN FERMENTATION AND MICROBIAL SYNTHESIS

ABSTRACT: The aim of this study was to investigate the effect of rumen protozoa on digestion, rumen fermentation and microbial protein synthesis when lambs received diets with different type of carbohydrates (100% alfalfa vs. 50-50% alfalfa-ground barley grain). Absence of rumen protozoa originated a reduction of 2.0 and 5.1 units in the OM and NDF total tract digestibility and provoked a modification of the rumen fermentation with a drop in the ammonia (120 vs. 40 mg/l; P<0.01) and VFA concentration (122 vs. 83 mM; P<0.01). Defaunation also modified the VFA profile in the rumen showing the highest acetate / propionate ratio when these lambs received forage diet. Abomasal microbial protein flow estimated by ^{15}N was not significantly affected by defaunation. However a reduction of the microbial efficiency of synthesis (g/MOTDR) was observed in lambs receiving concentrate (18.1 vs.16.3; P<0.05) or when there was a high protozoal concentration in the rumen (19.1 vs. 16.3; P<0.05) using liquid or solid associated bacteria as microbial extract respectively.

Keywords: rumen, microbial protein, synthesis, efficiency.