INFUSIÓN DE DIFERENTES DOSIS DE QUEBRACHO DURANTE 21 DÍAS EN EL RUMEN DE OVEJAS: EFECTO SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO*

G. Hervás, P. Frutos, M.C. Álvarez del Pino, A.R. Mantecón y F.J. Giráldez
Estación Agrícola Experimental (CSIC) Apdo. 788 – 24080 León

INTRODUCCIÓN

En la Estación Agrícola Experimental de León se han llevado a cabo varios estudios, *in vivo* e *in sacco*, encaminados a estudiar el efecto del quebracho (producto comercial empleado comúnmente como modelo de taninos condensados, TC) sobre la fermentación ruminal (*e.g.* Frutos *et al.*, 2000; Ramos *et al.*, 2001).

A partir de los resultados obtenidos en todos esos trabajos, que confirman que los TC disminuyen la fermentación ruminal y sugieren que este efecto es dependiente de la cantidad de taninos consumida, se planteó esta prueba con dos objetivos fundamentales: 1) profundizar en el estudio del efecto de la dosis sobre la acción de los TC y 2) utilizar una técnica *in vitro* (frente a las utilizadas previamente) para realizar este tipo de estudios.

El experimento, por lo tanto, se llevó a cabo para examinar, utilizando la técnica *in vitro* de producción de gas, el efecto de la administración de diferentes dosis de quebracho en el rumen de ovejas, durante 21 días, sobre la fermentación ruminal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 16 ovejas de raza Merina (52,1 ± 1,77 kg PV) fistuladas en el rumen. Los animales recibieron heno de alfalfa picado (materia seca (MS) = 889 g/kg, proteína bruta (PB)= 169 g/kg MS, fibra neutro detergente (FND) = 448 g/kg MS) dos ves al día, a 1,2 veces sus necesidades de mantenimiento. Además, dispusieron en todo momento de agua y de un bloque corrector vitamínico-mineral.

Para la administración de los taninos condensados en el rumen, se disolvió quebracho comercial (*Roy Wilson Dickson Ltd.*, Reino Unido) en 400 ml de agua que contenía un 0,08% de metanol. Las dosis de quebracho utilizadas fueron las siguientes:

- Grupo Q_0 (control; 4 ovejas): 0 g quebracho/kg PV
- Grupo Q_1 (4 ovejas): 0,5 g quebracho/kg PV
- Grupo Q_2 (4 ovejas): 1,5 g quebracho/kg PV
- Grupo Q_3 (4 ovejas): 3 g quebracho/kg PV

Los animales de los grupos Q_0, Q_1 y Q_2 recibieron, durante 21 días, una dosis diaria antes de la administración de la comida de la mañana. Los animales del grupo Q_3 sufrieron una intoxicación aguda y tuvieron que ser retirados del experimento tras 9 días de dosificación. Los otros 12 animales permanecieron sanos a lo largo de todo el experimento.

La fermentación ruminal se estudió mediante la técnica *in vitro* de producción de gas descrita por Mauricio *et al.* (1999), los días 0 y 21 del experimento. Para ello, se incubaron tres alimentos de referencia:

- Heno de alfalfa (HA): MS = 930 g/kg, PB = 154 g/kg MS, FND = 481 g/kg MS
- Paja de cebada (PC): MS = 927 g/kg, PB = 51 g/kg MS, FND = 765 g/kg MS
- *Erica arborea* (*Ea*): MS = 937 g/kg, PB = 53 g/kg MS, FND = 479 g/kg MS, TC = 252 g de "equivalentes de quebracho"/kg MS

Muestras de cada alimento (≈ 500 mg, molidas a 1 mm) se incubaron en el interior de botellas de suero de 125 ml de volumen. De cada grupo experimental se recogieron 2 inóculos diferentes (obtenidos de 2 animales cada uno) dos horas después de la administración de quebracho en el rumen. Los inóculos se filtraron a

través de 4 capas de gasa y se añadieron al medio de cultivo (McDougall, 1948) en una proporción 1:4 (v/v). A continuación, las botellas se cerraron herméticamente y se introdujeron en un incubador, donde permanecieron a 39,5°C durante 96 horas. La producción de gas en cada una de las botellas se registró a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 y 96 horas de incubación, mediante un transductor de presión.

Al final de la incubación, el residuo se filtró utilizando crisoles provistos de una placa porosa (Ø = 100-160 μm), se secó a 100°C durante 24 horas para estimar la desaparición de MS (DMS) y, posteriormente, se quemó a 550°C durante 6 horas para estimar la desaparición de MO (DMO).

Los datos de producción de gas se ajustaron al modelo descrito por France *et al.* (1993) para estimar la producción total de gas (*A*, ml), el tiempo de retraso (*L*, h), el tiempo en alcanzar la mitad de la asíntota (*T/2*, h) y el ritmo de producción de gas en *T/2* (*μ*, /h).

El efecto de la dosis de quebracho administrada y el día de incubación se estudiaron mediante análisis varianza utilizando el programa estadístico SAS (SAS, 1989). Las comparaciones entre medias se realizaron utilizando el test LSD.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El día 0, no se observaron diferencias estadísticamente significativas (P>0,05) en ninguno de los parámetros estudiados. Todos los datos que se presentan en la tabla 1 corresponden a los resultados del día 21 (es decir, tras 21 días de dosificación) en los grupos Q_0, Q_1 y Q_2, ya que los animales del grupo Q_3 tuvieron que ser retirados del experimento.

Tabla 1.- Desaparición de MS (DMS) y MO (DMO) y parámetros cinéticos de producción de gas (*A*, *μ*, *T/2* y *L*) del heno de alfalfa (HA), paja de cebada (PC) y *Erica arborea* (*Ea*) correspondientes a los distintos grupos experimentales (Q_0, Q_1 y Q_2) tras 96 horas de incubación y 21 días de administración de quebracho en el rumen.

Alimento	Grupo	DMS (g/kg)	DMO (g/kg MS)	*A* (ml)	*μ* (/h)	*T/2* (h)	*L* (h)
HA	Q_0	632^a	666^a	217^a	$0,057^a$	10,7	0,89
	Q_1	625^a	654^a	211^b	$0,054^a$	11,3	0,82
	Q_2	593^b	631^b	208^b	$0,048^b$	11,9	0,91
	esd	12,3	8,7	1,9	0,0025	1,35	0,150
	P	0,092	0,058	0,035	0,077	0,704	0,830
PC	Q_0	671^a	705^a	253	0,028	32,7	1,86
	Q_1	627^a	661^a	222	0,035	30,6	3,33
	Q_2	543^b	580^b	196	0,025	35,1	1,36
	esd	30,5	32,6	23,9	0,0049	4,99	0,772
	P	0,054	0,067	0,201	0,242	0,678	0,164
Ea	Q_0	352^a	371^a	99	$0,021^b$	$28,6^a$	–
	Q_1	339^b	359^{ab}	93	$0,022^b$	$26,4^a$	–
	Q_2	322^c	346^b	90	$0,029^a$	$21,6^b$	–
	esd	2,1	5,8	4,7	0,0019	1,88	–
	P	0,002	0,052	0,297	0,038	0,069	–

esd, error estándar de la diferencia.

La administración de quebracho tendió a reducir (P<0,10) la DMS y la DMO de los tres alimentos incubados. Las ovejas que recibieron la dosis más alta de

quebracho (grupo Q_2) presentaron valores inferiores a los de los otros dos grupos experimentales (Q_0 y Q_1). En este sentido, se sabe que concentraciones elevadas de TC pueden impedir la adhesión de los microorganismos ruminales al sustrato, inhibir la actividad enzimática y poseer cierta acción bactericida (Bae *et al.*, 1993; McAllister *et al.*, 1994), lo cual reduce la degradación ruminal de los alimentos.

En lo que se refiere a la producción de gas, el efecto de la administración de quebracho varió con el alimento incubado. Así, cuando se incubó PC, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P>0,10$) en ninguno de los parámetros estudiados, aunque esta ausencia de efectos probablemente esté relacionada con la elevada variación existente entre los dos inóculos ruminales. Por el contrario, cuando se incubó HA, la producción total de gas (A) fue significativamente menor ($P<0,05$) en los animales de los grupos Q_1 y Q_2 y el ritmo de producción de gas (μ) tendió a reducirse significativamente en los animales del grupo Q_2 ($P<0,10$).

Estos resultados sugieren que la actividad degradativa de los microorganismos ruminales se reduce cuando la concentración de TC es elevada. Sin embargo, cuando la concentración es menor, parece que ciertos microorganismos podrían compensar dicha inhibición mediante, por ejemplo, la producción de enzimas ligadas a la membrana, con lo que podrían llegar a adaptarse a los TC (Bae *et al.*, 1993) sin que la actividad fermentativa se viera afectada de modo muy marcado.

En la incubación de *Ea* sorprende el aumento significativo del ritmo de producción de gas (μ) y, consecuentemente, el menor valor de *T/2* en el grupo Q_2. Una explicación a estos resultados podría ser que la administración de quebracho favoreció la proliferación de bacterias ruminales que toleran los TC (Nelson *et al.*, 1998) y que presentarían una mayor capacidad para degradar forrajes más lignificados y con mayor contenido de taninos, tales como la *Ea* (Silanikove, 2000).

Los resultados de este trabajo demuestran la importancia de la dosis y la interacción con el tipo de alimento. Por otra parte, son muy similares a los obtenidos en pruebas *in sacco* e *in vivo* (Ramos *et al.*, 2001), lo cual nos permite suponer que la técnica *in vitro* de producción de gas es un método válido para este tipo de estudios.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la CICYT (Proyecto AGF98-0874). Gonzalo Hervás disfrutó de una beca FPI del Ministerio de Educación y Cultura (MEC).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bae, H.D.; McAllister, T.A.; Yanke, J.; Cheng, K.-J. and Muir, A.D. 1993. *Appl. Envirom. Microbiol.*, 59, 2132-2138.

France, J.; Dhanoa, M.S.; Theodorou, M.K.; Lister, S.J.; Davies, D.R. and Isac, D. 1993. *J. Theor. Biol.*, 163, 99-111.

Frutos, P.; Hervás, G.; Giráldez, F.J.; Fernández, M. and Mantecón, A.R. 2000. *J. Agric. Sci., Camb.*, 134, 101-108.

Mauricio, R.M.; Mould, F.L.; Dhanoa, M.S.; Owen, E.; Channa, K.S. and Theodorou, M.K. 1999. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 79, 321-330.

McAllister, T.A.; Bae, H.D.; Jones, G.A. and Cheng, K.-J. 1994. *J. Anim. Sci.*, 72, 3004-3018.

McDougall, E.I. 1948. *Biochem. J.*, 43, 99-109.

Nelson, K.E.; Thonney, M.L.; Woolston, T.K.; Zinder, S.H. and Pell, A.N. 1998. *Appl. Envirom. Microbiol.*, 64, 3824-3830.

Ramos, G.; Frutos, P.; Hervás, G.; Giráldez, F.J. y Mantecón, A.R. 2001. *ITEA, Prod. Anim.*, 22.

SAS. 1989.SAS/STAT®. User's Guide Int. (Version 6, 4th Ed.). SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Silanikove, N. 2000. *Small Rum. Res.*, 35, 181-193.