EFECTO DEL TIPO Y FORMA DE PRESENTACIÓN DEL CEREAL DEL CONCENTRADO SOBRE LA MICROBIOTA RUMINAL EN TERNEROS EN CEBO INTENSIVO

Gimeno, A., Al-Alami, A., Abecia, L.[1], Yáñez-Ruiz, D.R.[1], Castrillo, C., Fondevila, M.

Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón, Depto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza.
[1]Instituto de Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Profesor Albareda 1, 18008, Granada.
mfonde@unizar.es

INTRODUCCIÓN

Las dietas concentradas usadas en el cebo intensivo de terneros en el área Mediterránea pueden provocarla aparición de cuadros de acidosis debido a la fermentación masiva de los carbohidratos en rumen. En este contexto, dentro del complejo ecosistema ruminal, cobran especial importancia las especies bacterianas relacionadas con el metabolismo del lactato, tanto productoras (*Streptococcusbovis*) como utilizadoras (*Megasphaeraelsdenii* y *Selenomonas ruminantium*). Algunas de las estrategias estudiadas para la prevención de esta enfermedad se basan en el manejo de la alimentación, entre las que destaca una correcta elección de los cereales (en función del ritmo de degradación del almidón) y de la forma de presentación del concentrado. El objetivo de este experimento fue estudiar el efecto del tipo de cereal, de moderado (maíz) o rápido (cebada) ritmo de fermentación, y de su forma de presentación (molido o aplastado) sobre la microbiota ruminal en terneros en cebo intensivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ocho terneros machos de raza Frisona provistos de una cánula ruminal de 1 cm de diámetro interno,con un peso vivo inicial de 154±2,0 kg,previamente adaptados a una dieta rica en concentrado, que fueron alojados en jaulas individuales. Se formularon dos concentrados con un 60 % de cereales y distintas proporciones de maíz y cebada (75:25 - M -y 25:75 - C), que fueron ofrecidas en dos formas de presentación del cereal; molido a 3,5 mm (m) o aplastado en seco (a).El concentrado se administró *ad libitum*, en una única distribución diaria, y los animales dispusieron además de paja de cebada a voluntad. Cuatro animales fueron asignados a cada una de las dietas (M o C) durante todo el experimento. Se plantearon dos periodos experimentales de 35 d, en cada uno de los cuales el concentrado se administró en una u otra forma de presentación, siguiendo un diseño en “change-over”. El último día del periodo experimental se tomaron muestras de líquido ruminal justo antes de la distribución del concentrado (8:00) y 4 y 8 h después, utilizando una sonda de 0,6 cm de diámetro interno, las cuales fueron filtradas e inmediatamente congeladas en nitrógeno líquido. Después de extraer su ADN mediante el kit QIAamp DNA (QIAGEN, West Sussex, UK), se determinó la concentración de bacterias y protozoos totales mediante PCR a tiempo real (qPCR), a partir del número de copias del gen 16S o 18S del ADNr, respectivamente, con cebadores específicos de bacterias (Maeda *et al*., 2003) y protozoos (Sylvester *et al*., 2004).Las concentraciones se expresan en forma logarítmica, por gramo de materia fresca. Además, se procedió a la cuantificación relativa de las poblaciones de *S. bovis*, *M. elsdenii* y *S. ruminantium* (Stevenson y Weimer, 2007), *Prevotella ruminicola* (Tajima *et al*., 2001) y

Butyrivibrio fibrisolvens (Gudla *et al*., 2012), de acuerdo con el método propuesto por Denman y McSweeney (2005).Los resultados fueron analizados estadísticamente por el procedimiento MIXED (SAS, versión 9.2), considerando factorializados los efectos tipo de cereal y forma de presentación,al animal dentro de cereal como unidad experimental, y la hora de muestreo como medida repetida.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los recuentos de bacterias y protozoos totales no se vieron afectados significativamente por las dietas experimentales, presentando valores medios diarios de 9,97 y 4,30 copias del gen 16S y 18S, respectivamente, por gramo de materia fresca. La concentración resultante de bacterias totales se encuentra en el rango de las obtenidas por Chen *et al*. (2012), mientras que las menores concentraciones de protozoos obtenidasconcuerdan con las descritas por Nagaraja *et al*. (1992), aunque en su caso fueron determinadas por microscopía óptica. La contribución relativa de las cinco especies bacterianas estudiadas (Tabla 1) supuso, en términos medios, menos del 10% del total. El tipo de cereal no tuvo efectos significativos sobre la proporción de ninguna especie, mientras que la forma de presentación del concentrado afectó a la proporción de *S. ruminantium*, superior en las dietas aplastadas que en las molidas (2,15*vs.* 1,16 % del total, P=0,012), siendo las diferencias más marcadas con la dieta rica en maíz. Por otra parte, la hora de muestreo tuvo un efecto significativo sobre las concentraciones de *M. elsdenii* y *S. ruminantium*, ya que mientras la primera especie tendió a aumentar entre las 0 y las 4 h (P=0,05), la segunda mostró una disminución de su proporción (P=0,002). Las dietas aplastadas promovieron una pauta de ingestión más homogénea a lo largo del día y posiblemente un menor ritmo de fermentación del almidón de los cereales, lo que se tradujo en una fermentación ruminal más estable caracterizada por valores de pH superiores, sobre todo en el caso del maíz. Además, estas dietas promovieron una menor proporción de valores de pH inferiores a 5,6, los cuales fueron más abundantes a las 4 y 8 h tras la distribucióndel concentrado (Gimeno *et al*., 2011). Este hecho, junto con la menor tolerancia de *S. ruminantium* a condiciones acídicas respecto a las productoras de lactato (Nagaraja y Titgemeyer, 2007), podría explicar su menor concentración en las dietas molidas. La disminución de su concentración durante el primer intervalo también podría deberse a esta razón, ya que durante las primeras 4 h se produjo una caída del pH en todos los tratamientos, alcanzándose los valores más bajos de pH,en concordancia con un mayor ritmo de ingestión de concentrado durante las primeras horas (Gimeno *et al*., 2011). Por el contrario, la mayor tolerancia de *M. elsdenii* a la acidez (Therion *et al.,* 1982) podría explicar el aumento de su proporción sobre el total de bacterias durante este primer intervalo. El resto de especies estudiadas no se vieron afectadas ni por la dieta ni por la hora de muestreo. La baja proporción encontrada de *S. bovis* (en torno a un 0,001% del total), sugiere que otros microorganismos podrían estar implicados en el desarrollo de la acidosis subagudaen animales adaptados a una dieta rica en concentrado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

● Chen, Y. H., M. Oba, & L. L. Guan. 2012. Vet. Microbiol. 159:451-459.● Denman, S. E. & C. S. McSweeney. 2005. In 'Methods in Gut Microbial Ecology for Ruminants' (Ed. H. Makkar and C. S. McSweeney).●Gimeno, A., Al Alami, A., Fondevila, M., de Vega, A., Latorre, M.A.,Rodríguez, N.,Schauf, S. &Castrillo, C.2011.In 15th Congress European Society of Veterinary and Comparative Nutrition.Zaragoza.●Gudla, P., A. A. AbuGhazaleh, A. Ishlak, &

K. Jones. 2012. Anim. Feed Sci. Tech. 171:108-116. ● Maeda, H. et al. 2003.FEMS Immunol. Med. Mic. 39:81-86.●Nagaraja, T. G., & E. C. Titgemeyer.2007. J. Dairy Sci. 90 Suppl 1:E17-38. ●Nagaraja, T. G., G. Towne, & A. A. Beharka.1992. Appl. Environ. Microb.58:2410-2414.● Stevenson, D. M., & P. J. Weimer. 2007. Appl. Microb. Biotech. 75:165-174.●Sylvester, J. T., S. K. R. Karnati, Z. T. Yu, M. Morrison, & J. L. Firkins. 2004. J. Nutr. 134:3378-3384.●Tajima, K. et al. 2001. Appl. Environ. Microb. 67:2766-2774.●Therion, J. J., A. Kistner, & J. H. Kornelius. 1982. Appl. Environ. Microb. 44:428-434.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto AGL2009-12026). A. Gimeno disfrutó de una beca FPI BES-2010-039495.

Tabla 1. Efecto de la dieta (Mm, maíz molido; Ma, maíz aplastado; Cm, cebada molida; Ca, cebada aplastada) y de la hora de muestreo sobre las proporciones de *S. ruminantium*, *M. elsdenii* y *S. bovis* (% sobre bacterias totales).

	S. ruminantium				*M. elsdenii*				*S. bovis*			
Hora	Mm	Ma	Cm	Ca	Mm	Ma	Cm	Ca	Mm	Ma	Cm	Ca
0	1,13	3,55	1,78	1,91	0,03	0,04	0,13	0,06	0,0014	0,0009	0,0018	0,0013
4	1,12	2,64	0,91	1,16	0,04	0,05	0,17	0,10	0,0013	0,0009	0,0010	0,0006
8	1,11	2,23	0,92	1,39	0,03	0,06	0,16	0,10	0,0009	0,0008	0,0016	0,0013
eem[1]	0,311				0,049				0,0003			
eem[2]	0,193				0,027				0,0002			
probab.	C	P	C*P	H	C	P	C*P	H	C	P	C*P	H
	0,086	0,012	0,056	0,002	0,141	0,628	0,433	0,050	0,468	0,264	0,941	0,146

eem[1]:Error estándar de la media para la comparación entre tratamientos (n=12).

eem[2]:Error estándar de la media para la comparación entre horas (n=16).

Probabilidad: C: efecto tipo cereal; P: efecto tipo de presentación; H: tiempo de muestreo

EFFECT OF TYPE AND PHYSICAL FORM OF THE CEREAL OF THE CONCENTRATE ON RUMEN MICROBIOTA IN INTENSIVELY REARED STEERS

ABSTRACT: Ruminal acidosis is a common metabolic disorder found in feedlot cattle. The aim of this work was to study the effect of the source of cereal (maize or barley) in the concentrate and its physical form (ground to 3,5 mm or dry rolled) on rumen microbiota in intensively reared steers previously adapted to a high-concentrate diet, using quantitative PCR. Total rumen bacteria and protozoa were not affected by the cereal type, nor by its presentation form. During the first 4 h after feeding, mean proportions of *Selenomonas ruminantium* decreased in all diets and those of *Megasphaera elsdenii* increased. At all sampling times,rolled diets tended to promote higher mean proportions of *S. ruminantium* than those ground. *S. ruminantium*is not as acid tolerant as other species, which could explained these results, because ground diets tended to promote lower pH values at all sampling times. The populations of *Butyrivibrio fibrisolvens* and *Prevotella ruminicola* were not affected by the experimental diets. The low proportions of *Streptococcus bovis* observed (about 0,001% of total bacteria) suggest that other microorganisms might also be involved in ruminal acidosis development in steers well adapted to high-grain diets.

Keywords: rumen acidosis, qPCR, *Selenomonas ruminantium*, *Streptococcus bovis*