EFECTO DE LA ADICIÓN DE 18:0 A UNA DIETA RICA EN ACEITE DE PESCADO SOBRE EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO Y EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE DE OVEJAS LECHERAS

Toral[1]*, P.G., Hervás[1], G., Carreño[1], D., González[1], J.S., Amor[2], J. y Frutos[1], P.
[1]Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Finca Marzanas s/n. 24346 Grulleros, León, España. [2]INATEGA S.L., Ctra. Valdefresno, 2. 24228 Corbillos de la Sobarriba, León, España. *Correo electrónico: pablo.toral@csic.es

INTRODUCCIÓN

Los avances científicos en la mejora del valor nutricional de la leche de oveja y su consiguiente valor añadido no pueden ir nunca acompañados de efectos negativos sobre el rendimiento productivo de los animales, ya que esto anularía su aplicación práctica.

La suplementación de la dieta de ovejas lecheras con lípidos de origen marino permite modular el perfil lipídico de la leche (Lock y Bauman, 2004) ya que inhibe la saturación ruminal de los *trans* 18:1 a 18:0 y favorece así la acumulación de *trans*-11 18:1 y, consecuentemente, la concentración láctea de *cis*-9 *trans*-11 CLA (Toral et al., 2010; Bichi et al., 2013). También permite aumentar el contenido de ácidos grasos (AG) n-3 de cadena muy larga en la leche. Sin embargo, esta estrategia de alimentación produce el denominado síndrome de baja grasa o depresión de la grasa de la leche (MFD;Toral et al., 2010; Bichi et al., 2013). Aunque persiste un importante desconocimiento sobre los mecanismos implicados en dicha respuesta, se ha especulado que este tipo de MFD podría estar asociado a un déficit de 18:0 (causado, como ya se ha mencionado, por la inhibición del último paso de la biohidrogenación ruminal). Este déficit limitaría la síntesis mamaria de *cis*-9 18:1 mediante la acción de la enzima Δ^9-desaturasa y podría afectar negativamente al mantenimiento de la fluidez de la grasa láctea (Shingfield et al., 2010).

Basándose en esta hipótesis, esta prueba se llevó a cabo para estudiar si la MFD causada por la inclusión de aceite de pescado en la dieta de ovejas lecheras se podría aliviar aumentando la disponibilidad de 18:0 y contrarrestando así su disminución en el rumen.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este experimento, se utilizaron 12 ovejas de raza assaf que fueron distribuidas en 3 lotes (4 animales/lote) equilibrados en función de su peso vivo (71,3 ± 2,68 kg), nivel de producción de leche (3,9 ± 0,06 kg/d), días posparto (32 ± 1,5), número de lactación (2,6 ± 0,40) y contenido de grasa de la leche (5,2 ± 0,12%). El ensayo siguió un diseño en cuadrado latino 3×3, con 3 periodos de 4 semanas cada uno y 3 tratamientos experimentales, que consistieron en una dieta mixta completa basada en heno de alfalfa y un concentrado (relación 40:60) sin suplementación lipídica (Control) o con un 2% de aceite de pescado solo (PE) o en combinación (PE+18) con un 2% de 18:0 (Edenor C18-98, Oleo Solutions). Los animales recibieron las dietas ad líbitum y se ordeñaron dos veces al día.

Los días 25, 26 y 27 de cada periodo experimental se registró la producción individual de leche y se recogió una muestra de cada animal para determinar su composición mediante espectrofotometría de infrarrojos. Además se tomaron alícuotas de la leche producida por cada lote (mezcla proporcional de la cantidad producida por cada oveja) para analizar su perfil de AG mediante cromatografía de gases (Shingfield et al., 2003). La ingestión de alimento se controló también por lotes en la última semana de cada periodo.

Una vez acabada esta parte, 3 ovejas del grupo PE+18 y otras 3 del PE (estas últimas para determinar las concentraciones de 18:0 cuando no se suplementa con este AG) se alojaron en jaulas metabólicas para estudiar la digestibilidad del suplemento de 18:0. Tras dos días de adaptación a las jaulas, durante los 5 siguientes se controló la ingestión diaria de alimento y se pesaron las heces de cada animal. En ese tiempo, se recogieron también muestras individuales de los restos del alimento ofertado y de las heces para determinar su contenido de MS y analizar su composición lipídica. A continuación, y siguiendo un diseño *change-over*, se invirtieron los tratamientos que recibía cada animal. Las dietas se ofertaron durante 21 días y durante los 7 últimos se alojó de nuevo a las ovejas en jaulas metabólicas, realizándose las mismas medidas y toma de muestras que en el periodo anterior.

Los datos de rendimiento productivo y perfil de AG de la leche de cada lote se sometieron a un análisis de medidas repetidas utilizando el procedimiento MIXED del SAS 9.4 (SAS

Institute Inc., EE. UU.), con un modelo estadístico que incluyó los efectos fijos de la dieta, del periodo y su interacción y el efecto aleatorio del lote.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La suplementación de la dieta con aceite de pescado no afectó a la producción de leche (Tabla 1), lo que coincide con estudios previos en ovejas lecheras que recibían lípidos marinos (Toral et al., 2010; Bichi et al., 2013), a pesar de que, comparado con el control, el tratamiento PE tendió a reducir la ingestión de alimento (P<0,10).

***Tabla 1**. Rendimiento productivo de ovejas alimentadas con la dieta control o suplementada con 2% de aceite de pescado solo (PE) o en combinación con 2% de 18:0 (PE+18)*

		Dieta				
		Control	PE	PE+18	EED[1]	P[2]
Ingestión de MS (kg/d)		3,37^{x}	2,97^{y}	3,25^{xy}	0,106	t
Producción de leche (kg/d)		3,16	3,09	3,21	0,087	ns
Composición (%)	Grasa	5,35^{a}	4,32^{b}	4,22^{b}	0,094	***
	Proteína	5,44^{a}	5,09^{b}	5,07^{b}	0,051	***
	Lactosa	5,02	5,09	5,03	0,038	ns

Distintos superíndices en la misma fila indican diferencias significativas (^{a,b}P<0,05) o una tendencia (^{x,y}P<0,10) a la significación.
*[1]EED, error estándar de la diferencia. [2]nivel de significación. ns=P>0,10; t=P<0,10; ***=P<0,001.*

Sorprendentemente, la reducción del contenido de grasa láctea fue similar en PE y PE+18 (20%; P<0,001), sugiriendo que la mayor disponibilidad de 18:0 para la captación y desaturación en la glándula mamaria no alivió la MFD causada por la suplementación lipídica. Dicho aumento en la cantidad de 18:0 disponible para la síntesis de *cis*-9 18:1 se demostraría por el incremento en la proporción tanto de 18:0 como de *cis*-9 18:1 en la leche que se observa en PE+18, en comparación con PE (P<0,001; Tabla 2), aunque no se alcanzaron las concentraciones observadas en el control.

***Tabla 2**. Perfil parcial de ácidos grasos (AG; % sobre AG totales) de la leche de ovejas alimentadas con la dieta control o suplementada con 2% de aceite de pescado solo (PE) o en combinación con 2% de 18:0 (PE+18)*

	Dieta				
	Control	PE	PE+18	EED[1]	P[2]
18:0	5,52^{a}	1,33^{c}	3,50^{b}	0,185	***
cis-9 18:1	9,89^{a}	6,02^{c}	8,91^{b}	0,172	***
cis-11 18:1	0,67^{c}	0,97^{b}	1,06^{a}	0,027	***
trans-10 18:1	0,69^{c}	3,97^{b}	4,77^{a}	0,217	***
trans-11 18:1	1,02^{c}	4,04^{a}	3,02^{b}	0,244	***
18:2n-6	2,63^{a}	1,97^{c}	2,20^{b}	0,084	***
cis-9 *trans*-11 CLA	0,52^{c}	1,55^{a}	1,02^{b}	0,085	***
trans-9 *cis*-11 CLA	0,04^{b}	0,16^{a}	0,15^{a}	0,009	***
trans-10 *cis*-12 CLA	0,01^{b}	0,03^{a}	0,02^{a}	0,002	***
20:5n-3	0,06^{b}	0,42^{a}	0,41^{a}	0,008	***
22:6n-3	0,16^{b}	1,18^{a}	1,21^{a}	0,052	***
∑ AG impares y ramificados	4,81^{a}	4,49^{b}	4,12^{c}	0,073	***

Distintos superíndices en la misma fila indican diferencias significativas ($^{a-c}$P<0,05).
*[1]EED, error estándar de la diferencia. [2]nivel de significación. ***=P<0,001.*

Puesto que los coeficientes de digestibilidad del 18:0 fueron relativamente bajos (alrededor del 50%) pero no permitirían explicar por sí solos los resultados encontrados, cabe plantearse si la baja respuesta a la administración de 18:0 podría ser atribuida a una escasa captación por la glándula mamaria (Enjalbert et al., 1998) o si otros factores podrían estar anulando los efectos de dicha suplementación.

En este sentido, la comparación del perfil lipídico de la leche de las ovejas que consumían las dietas suplementadas sugiere que el tratamiento PE+18 provocó mayores alteraciones a nivel ruminal que el PE. Así, la disminución del contenido lácteo de AG impares y ramificados, derivados principalmente de los microorganismos del rumen (Fievez et al., 2012), fue más acusada en este tratamiento (P<0,001). Esto hace suponer diferencias en la diversidad y actividad microbiana que podrían repercutir en el metabolismo ruminal de los AG. Por un lado, la adición de 18:0 a la dieta pudo promover la formación de *trans*-10 18:1 a costa de una reducción en la de *trans*-11 18:1, lo que se reflejó en sus proporciones relativas en la leche (P<0,001; Tabla 2). Estos cambios son de gran interés, ya que los aumentos del *trans*-10 18:1 están asociados frecuentemente a la MFD (Toral et al., 2010; Bichi et al., 2013), aunque se desconoce aún su papel específico en este síndrome (Shingfield et al., 2010). Por otro lado, no hubo diferencias significativas entre PE y PE+18 en el *trans*-10 *cis*-12 CLA y el *trans*-9 *cis*-11 CLA, dos metabolitos intermedios de la biohidrogenación con efectos potencialmente antilipogénicos (Shingfield et al., 2010), mientras que el aumento en el contenido de *cis*-11 18:1 fue mayor en las ovejas del tratamiento PE+18 (P<0,001). Dado que este isómero 18:1 inhibe la lipogénesis en los adipocitos de vacuno (Burns et al., 2012), quizás pudiera especularse sobre un efecto similar en el tejido mamario. Las supuestas diferencias en la microbiota ruminal debidas a la inclusión de 18:0 en la dieta no parecieron afectar a la transferencia de los principales AG n-3 del aceite de pescado (20:5n-3 y 22:6n-3) a la leche, siendo su concentración relativamente alta y similar para PE y PE+18 (P>0,10).
Finalmente, a modo de conclusión, los resultados de este estudio no parecen respaldar que una mayor disponibilidad de 18:0 para la síntesis mamaria de *cis*-9 18:1 alivie la MFD inducida por la suplementación de la dieta con lípidos marinos. Esta falta de respuesta podría explicarse, al menos en parte, por alteraciones en el metabolismo lipídico ruminal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Bichi, E., et al., 2013. J. Dairy Sci. 96: 524-532. • Burns, T.A., et al., 2012. Lipids 47: 1143-1153. • Enjalbert, F., et al., 1998. J. Nutr. 128: 1525-1532. • Fievez, V., et al., 2012. Anim. Feed Sci. Technol. 172: 51-65. • Lock, A.L., y D.E. Bauman, 2004. Lipids 39: 1197-1206. • Shingfield, K.J., et al., 2003. Anim Sci. 77: 165-179. • Shingfield, K.J., et al., 2010. Animal. 4: 1140-1166. • Toral, P.G., et al., 2010. J. Dairy Sci. 93: 1604-1615.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CSI023U13 de la Junta de Castilla y León. P.G. Toral y D. Carreño disfrutan, respectivamente, de un contrato Juan de la Cierva y de una beca predoctoral FPI del MINECO.

EFFECT OF THE ADDITION OF 18:0 TO A DIET RICH IN FISH OIL ON ANIMAL PERFORMANCE AND MILK FATTY ACID PROFILE IN DAIRY EWES

ABSTRACT: Diet supplementation with fish oil (FO) modulates the fatty acid (FA) profile of sheep milk but induces milk fat depression (MFD). This response has been associated with a shortage of 18:0 for mammary *cis*-9 18:1 synthesis (through Δ^9-desaturation) and its potential impact on the maintenance of milk fat fluidity. This study was, therefore, conducted to test the hypothesis that supplemental 18:0 would alleviate FO-induced MFD in ewes. The experiment followed a 3×3 Latin square design (4 animals/group) with 3 periods of 4 weeks each and 3 experimental diets: non-supplemented, supplemented with 2% FO or 2% FO plus 2% 18:0. Afterwards, the digestibility of additional 18:0 was measured using 6 lactating sheep. Compared with the control, both supplemented diets reduced milk fat content in a similar proportion (20%), suggesting that the inclusion of 18:0 does not alleviate FO-induced MFD. This result cannot be fully explained by the relatively low digestibility coefficient of additional 18:0, although this supplement partially compensated for the decrease in milk *cis*-9 18:1 concentration associated with FO intake. Changes in the proportion of odd- and branched-chain and biohydrogenation-derived FA (which suggest, for example, a shift from *trans*-11 to *trans*-10 18:1) might contribute to explain the unsuccessful response to the addition of 18:0.

Keywords: marine lipid, milk fat depression, sheep, stearic acid