DEPRESIÓN DE LA GRASA LÁCTEA EN OVEJAS QUE CONSUMEN LÍPIDOS DE ORIGEN MARINO: 1. ¿PUEDEN LOS ÁCIDOS GRASOS ANTILIPOGÉNICOS DE LA LECHE EXPLICAR LA VARIACIÓN INDIVIDUAL?

Rodríguez-López, L., Hervás, G., Toral, P.G., Mendoza, A.G., Belenguer, A., Fernández, M. y Frutos, P.
Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Finca Marzanas s/n. 24346 Grulleros, León, España. p.frutos@csic.es

INTRODUCCIÓN

La suplementación de la dieta de ovejas con lípidos de origen marino permite mejorar las propiedades saludables de la leche mediante una modificación de su perfil de ácidos grasos (AG) (incluyendo, p.ej., una reducción de las concentraciones de los aterogénicos 12:0, 14:0 y 16:0 y un aumento de las de vaccénico, ruménico-CLA y n-3 de cadena muy larga, como el DHA; Capper et al., 2007; Bichi et al., 2013b). Sin embargo, esta estrategia de alimentación produce el denominado síndrome de baja grasa en la leche (MDF por sus siglas en inglés; Toral et al., 2015, 2016) que invalida su aplicación en condiciones prácticas de explotación. Entender este síndrome, para poder mitigarlo, es por lo tanto una prioridad en esta línea de investigación.

La MFD se ha relacionado con la presencia en la leche de ciertos metabolitos de la biohidrogenación ruminal (BH) con carácter antilipogénico. Aunque dicho carácter solo se ha demostrado inequívocamente en el caso del *trans*-10 *cis*-12 CLA, en la actualidad se conocen algunos más a los que también se les atribuye esa propiedad (Bauman et al., 2011; Kairenius et al., 2015; Toral et al., 2016). Por otra parte, diversos estudios han mostrado una amplia variación en la respuesta individual en términos de MFD, con caídas de la grasa muy acusadas en algunas ovejas y mucho menores en otras (Bichi et al., 2013a,b).

Así pues, este trabajo se realizó en ovejas lecheras para estudiar la siguiente hipótesis: las diferencias individuales en la depresión de la grasa láctea en respuesta al consumo de aceite de pescado estarían relacionadas con el perfil de ácidos grasos potencialmente antilipogénicos de la leche.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se utilizaron 15 ovejas de raza assaf que al inicio del ensayo estaban en el día 48 ± 1,4 posparto y en la lactación 2,4 ± 0,42.

Los animales recibieron ad líbitum una ración mixta completa basada en heno de alfalfa y un concentrado (relación F:C 50:50), sin ninguna suplementación (grupo control; n=5) o suplementada con 20 g de aceite de pescado/kg MS (grupo MFD; n=10). Para seleccionar los 10 animales MFD se había partido de un total de 22, de los cuales se eligieron 5 que mostraron una elevada MFD en respuesta a la adición de aceite de pescado a la dieta (RESPO+) y 5 cuya respuesta fue más leve (RESPO-).

Tras una adaptación a la dieta control y justo antes de recibir esta o la suplementada, durante 3 días consecutivos se midió la producción de leche y se recogieron muestras de cada oveja, proporcionales a la producción de la mañana y de la tarde. Una muestra se conservó con bronopol y se empleó para determinar su contenido de grasa mediante espectrometría de infrarrojos. En otra muestra se analizó el perfil lipídico mediante cromatografía de gases (Shingfield et al., 2003, Toral et al., 2016), con especial atención a los metabolitos derivados de la BH con carácter potencialmente saludable o perjudicial para los consumidores o bien antilipogénico (ver Tablas 1 y 2). Después de un mes con las dos dietas, se volvió a repetir el proceso otros 3 días consecutivos (i. e., el 31, 32 y 33).

Los resultados se analizaron mediante un ANCOVA, utilizando como covariable los datos obtenidos al inicio del experimento, con el procedimiento MIXED del SAS 9.4 (SAS Inst. Inc., EE. UU.). Para comparar las medias se usaron dos contrastes ortogonales: Control *vs.* MFD y RESPO- *vs.* RESPO+.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se muestra en la Tabla 1, la suplementación de la dieta con aceite de pescado no afectó a la producción de leche (P>0,10) pero mejoró su perfil lipídico. Entre los cambios, cabría destacar la caída del porcentaje de los principales AG aterogénicos (i. e., 12:0, 14:0 y 16:0) e incrementos del *cis*-9 *trans*-11 CLA, del ácido α-linolénico, de AG n-3 de cadena muy

larga (e. g., EPA, DPA y DHA) o de los insaturados y poliinsaturados totales. La reducción del ác. oleico también era esperada dada la conocida inhibición del último paso de la BH causada por los aceites de origen marino, lo que reduce la cantidad de esteárico disponible y, consiguientemente, la síntesis de oleico en la glándula mamaria (Shingfield et al., 2010; Toral et al., 2016). A su vez, también previsto, el consumo de aceite de pescado redujo tanto la concentración de grasa como su producción. La depresión de la grasa láctea fue de un 25,4% en el grupo de ovejas más sensibles (RESPO+) y de solo un 7,6% en el RESPO- (P<0,001). Sin embargo, entre estos dos grupos (RESPO+ vs RESPO-), apenas se detectaron diferencias en los demás parámetros estudiados.

***Tabla 1**. Producción de leche y grasa (g/d) y porcentaje de grasa y de algunos ácidos grasos (g/100 g AG) potencialmente perjudiciales o saludables en ovejas lecheras alimentadas con una dieta control (CON) o suplementada con aceite de pescado (MFD) y que muestran una acusada (RESPO+) o ligera (RESPO-) depresión de la grasa láctea.*

	Control	RESPO-	RESPO+	eed[1]	CON vs. MFD[2]	RESPO- vs. RESPO+[2]
Producción leche (g/d)	2587	2697	2696	151,5	0,420	0,993
Grasa (%)	5,87	5,42	4,38	0,153	<0,001	<0,001
Grasa (g/d)	152,4	143,3	117,9	9,15	0,014	0,018
12:0 + 14:0 + 16:0	45,98	42,35	42,67	1,131	0,003	0,779
18:0	7,29	2,15	1,26	0,517	<0,001	0,114
cis-9 18:1	12,11	7,52	5,86	0,936	<0,001	0,103
trans-11 18:1	0,59	5,06	5,45	0,755	<0,001	0,597
18:3n-3	0,70	0,78	0,82	0,029	0,002	0,155
cis-9 *trans*-11 CLA	0,34	2,57	2,45	0,254	<0,001	0,629
20:5n-3	0,05	0,40	0,44	0,049	<0,001	0,440
22:5n-3	0,09	0,97	0,87	0,152	<0,001	0,501
22:6n-3	<0,01	0,73	1,09	0,195	<0,001	0,089
Insaturados totales	21,71	29,15	28,95	0,952	<0,001	0,839
PUFA totales	4,49	9,31	9,54	0,375	<0,001	0,55

[1]eed = error estándar de la diferencia. [2]Nivel de significación (P)

Los ácidos grasos con demostrado o potencial carácter antilipogénico se presentan en la Tabla 2. Como ya se ha mencionado, únicamente se reconocen propiedades inequívocamente antilipogénicas al *trans*-10 *cis*-12 CLA, aunque su papel en el ovino lechero no parece ser determinante, al contrario de lo que ocurre en el vacuno (Bauman et al., 2011; Carreño et al., 2016). Solo este AG mostró diferencias significativas entre RESPO- y RESPO+ pero, sorprendentemente, el aumento fue superior en el primero. Dada su poca relevancia en ovejas, y su baja concentración y alta variabilidad, no puede descartarse que esta diferencia sea meramente numérica y no tenga un alcance biológico.

Entre los AG a los que se atribuye un carácter potencialmente antilipogénico, hace años que se trabaja con el *trans*-9 *cis*-11 CLA o el *trans*-10 18:1, pero los resultados aún no son concluyentes (Kadegowda et al., 2009; Shingfield et al., 2010). En nuestro caso, ambos aumentaron significativamente en el grupo MFD (especialmente el *trans*-10 18:1), pero sin variaciones entre RESPO- y RESPO+ (P>0,10).

En trabajos más recientes se ha empezado a especular con la posible implicación de otros AG que en muchas ocasiones no aparecían en los perfiles lipídicos, tales como el *cis*-9 16:1 o el *cis*-11 18:1 (Kairenius et al., 2015; Toral et al., 2015). También se sospecha un papel en la MFD del *trans*-10 *cis*-15 18:2, metabolito intermedio de la BH del α-linolénico que en las condiciones cromatográficas empleadas coeluye con el *trans*-11 *cis*-15 18:2 (Alves y Bessa, 2014; Kairenius et al., 2015). De forma similar, concentraciones más elevadas de algunos cetoácidos suele ser una característica común en animales con MFD (Bichi et al., 2013b; Carreño et al., 2016). Todos estos AG mostraron un incremento significativo en la

comparación Control vs. MFD. No obstante, con la citada excepción del *trans*-10 *cis*-12 CLA, sus valores fueron muy similares en los grupos RESPO- y RESPO+.

***Tabla 2**. Porcentaje de ácidos grasos potencialmente antilipogénicos (g/100 g AG) en ovejas alimentadas con una dieta control (CON) o suplementada con aceite de pescado (MFD) y que muestran una acusada (RESPO+) o ligera (RESPO-) depresión de la grasa láctea.*

	Control	**RESPO-**	**RESPO+**	eed[1]	CON vs. MFD[2]	RESPO- vs. RESPO+[2]
cis-9 16:1	0,67	1,07	1,12	0,079	<0,0001	0,5323
trans-10 18:1	0,05	1,00	1,47	0,294	0,0007	0,1355
cis-11 18:1	0,36	0,75	0,79	0,038	<0,0001	0,2413
trans-11 *cis*-15 18:2[3]	0,06	0,37	0,46	0,050	<0,0001	0,1102
trans-9 *cis*-11 CLA	0,01	0,04	0,05	0,009	0,0007	0,7458
trans-10 *cis*-12 CLA	<0,01	0,02	0,01	0,002	<0,0001	0,0057
10-oxo-18:0	0,02	0,37	0,37	0,035	<0,0001	0,9939

[1]eed =error estándar de la diferencia. [2]Nivel de significación (P) [3]Coeluye con trans-*10* cis-*15 18:2*.

Por lo tanto, aunque sea necesario continuar investigando al respecto, los resultados de esta prueba nos obligan a rechazar la hipótesis inicial y concluir que las diferencias individuales en la MFD en respuesta al consumo de aceite de pescado no parecen estar relacionadas con el perfil de ácidos grasos potencialmente antilipogénicos de la leche.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Alves, S.P., et al. 2014. Lipids 49: 527-541. • Bauman, D.E., et al. 2011. Ann. Rev. Nutr. 31: 299-319.• Bichi, E., et al. 2013a. Anim. Feed Sci. Technol. 186: 36-44. • Bichi, E., et al. 2013b. J. Dairy Sci. 96: 524-532. • Capper, J. L., et al. 2007. Animal 1: 889-898. • Carreño, D., et al. 2016. J. Dairy Sci. 99: 7971-7981. • Kairenius, P., et al. 2015. J. Dairy Sci. 98: 5653-5672. • Kadegowda, A.K.G., et al. 2009. J. Dairy Sci. 92: 4276-4289. • 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. 2015. Anim. Feed Sci. Technol. 210: 66-73.• Toral, P.G., et al. 2016. J. Dairy Sci. 99: 1133-1144.

Agradecimientos: Este trabajo forma parte del Proy. AGL2014-54587; L. Rodríguez-López disfruta de una beca predoctoral FPI y P.G. Toral de un contrato Ramón y Cajal, todos ellos del MINECO y con cofinanciación del FSE.

MILK FAT DEPRESSION IN DAIRY EWES FED MARINE LIPIDS: MAY MILK ANTILIPOGENIC FATTY ACID PROFILE EXPLAIN THE INDIVIDUAL VARIATION?

ABSTRACT: This study was conducted in dairy sheep to test the hypothesis that the milk concentration of antilipogenic fatty acids (FA) may account for individual variations in marine lipid-induced milk fat depression (MFD). We used fifteen ewes receiving a total mixed ration supplemented with 0 (control; n=5) or 20 g of fish-oil/kg DM [n=10; with animals divided in those showing a strong (RESPO+, n=5) or slight (RESPO-) MFD]. Milk production and composition, and milk FA profile were recorded for 3 consecutive days before and after (i.e., days 31, 32 and 33) treatments. Milk production was not affected by the diets (P>0.10) but milk fat concentration was decreased up to 25.4% in RESPO+ and 7.6% in RESPO- (P<0.0001). Consumption of the fish oil diet enhanced (P<0.01) milk content of both potentially healthy FA (e.g., *cis*-9 *trans*-11 CLA, α-linolenic acid, very long chain n-3 FA and total PUFA) and antilipogenic FA (e.g., *cis*-9 16:1, *trans*-10 and *cis*-11 18:1, *trans*-10 *cis*-15 18:2, *trans*-9 *cis*-11 and *trans*-10 *cis*-12 CLA, and 10-oxo-18:0). However, differences were hardly detected between RESPO- and RESPO+, which obliges to reject the hypothesis.

Keywords: fish oil supplementation, lipogenesis, sheep, *trans* fatty acid.