

ESTUDIO DE LA CAPACIDAD ESTABILIZADORA DE UNA MEZCLA COMERCIAL DE SUSTANCIAS FLAVONOIDES (BIOFLAVEX®) SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL EN SITUACIONES DE ACIDOSIS INDUCIDA

J. Balcells¹, A. Arís², M. Devant², J. Crespo³ y Seradj¹ A. R.

(1) ETSEA Universitat de Lleida, Lleida; (2) IRTA, Barcelona. Spain (3) Exquim, Barcelona. Spain. E-mail: balcells@prodan.udl.cat

INTRODUCCION

El proceso de acidosis se caracteriza por una serie de modificaciones a nivel del ecosistema ruminal que se caracterizan por un aumento en la producción y acumulación de AGV y lactato junto otros cambios relevantes, entre otros, un incremento en la presión osmótica del rumen. Tradicionalmente la adición de antibióticos (ionóforos, monensina, lasalocid, etc) ha permitido mantener estos procesos de fermentación, pero la retirada de dichas sustancias justifica la búsqueda de estrategias alternativas para reducir la incidencia de dichos procesos. Diferentes compuestos secundarios de las plantas han sido probados con este fin, entre ellos los flavonoides. En esta línea, en el presente ensayo se pretende estudiar el efecto inmediato que dichas sustancias (Bioflavex®), como estabilizadores de la fermentación ruminal, puedan ejercer ante una situación de acidosis inducida.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 terneras cruzadas Holstein canuladas en el rumen (PV 451,4 ± 14.32 Kg) que fueron alimentadas con heno de prado (g/100 g MS: 11.2 PB; 62.2 FND y 34.4 de FAD;) a niveles de mantenimiento (*circa* 8 Kg MF). Tras un período de adaptación (20 d) se procedió a mantener a los animales un día en ayunas (d21) para posteriormente (d22, 8 h) administrar manualmente, a través de la cánula 5 Kg de trigo molido (g/100 g MS: 11.2 PB; 11.0 FND y 3.7 de FAD) suplementado (0.3 ‰), o no, con flavonoides (Bioflavex®, Exquim SA, Barcelona, España). El trigo suplementado se administró a cuatro terneras al azar, mientras que el resto recibió el trigo sin el suplemento, el proceso se repitió en un diseño cruzado (2 x 8). Durante las últimas 72 h (d19-d22) de cada período se registró continuamente el pH ruminal (cada 22 min.) siguiendo el procedimiento descrito por Bach et al. (2007). Durante las últimas 24 h de cada período (d22) se muestreó el contenido ruminal de forma previa y a las 2, 4, 8 y 24 horas, tras la administración del cereal molido.

Muestreo y determinaciones analíticas:

Las muestras de heno fueron caracterizadas y en el contenido ruminal fresco (300 g, aprox) se determinó el pH y se tomó una muestra –completa– para la extracción de DNA (50 g MF aproximadamente). El resto de digesta fue filtrada a través de un filtro metálico de 1.5 mm poro. En el líquido ruminal se determinó la concentración de N-NH₃, ácidos grasos volátiles (AGV) y ácido láctico.

El DNA fue extraído de la digesta ruminal a partir de la técnica propuesta por Yu y Morrison (2004), la biodiversidad determinada mediante tRFLP y la cuantificación de *Streptococcus bovis*, *Megaesphaera elsdenii* y *Selenomonas ruminantium* se realizó mediante qPCR utilizando *primers* específicos.

Análisis estadísticos

Los datos correspondientes a la dinámica ruminal se analizaron según un modelo mixto en el que el efecto tratamiento (T) y período (P) fueron considerados como factores fijos y el animal como aleatorio. El tiempo (Hora de muestreo: H) fue considerado como factor de repetición. La evolución del pH fue analizada según un modelo mixto, el factor de repetición fue la fracción (F) definida como el valor medio de tres determinaciones de pH realizadas cada 22 min., F se consideró incluida dentro de cada animal. Los efectos fijos fueron, período (primer y segundo: P1 y P2), tratamiento (Inclusión de trigo molido sólo [CTR] o suplementado [FL] con flavonoides) considerando además dos fases, previa y posterior a la inducción de acidosis (Preexp y Exp) y sus interacciones. El animal fue tratado como efecto aleatorio. Las diferencias fueron declaradas como significativas a P<0.05 y tendencia P<0.1,

RESULTADOS Y DISCUSION

La administración del trigo modificó la concentración de N-NH₃, que incrementó hasta alcanzar su valor máximo a las 8 h, para posteriormente disminuir (P<0.005) y ello fue así con independencia del tratamiento experimental. La concentración de AGV (mmol/l) en el líquido ruminal, incrementó también tras la administración del cereal alcanzando los niveles más altos a las 8h para disminuir posteriormente, y ello reflejaría la fermentación paulatina del trigo en el rumen. La adición de flavonoides aunque aparentemente redujo la concentración ruminal de AGV su efecto no alcanzó significación estadística.

Tabla 1: Efecto de la inducción acidótica, tiempo tras la inducción y tratamiento sobre las concentraciones de ácidos grasos volátiles, N-NH₃, lactato y proporción de algunas especies consumidoras/productoras de ácido láctico en líquido ruminal de terneras cruces de frisona-Holstein alimentadas con heno de gramíneas.

Item	Tratamiento		Horas					Significación		
	CTR	FL	0	2	4	8	24	ES	Tr	H
N-NH ₃ (mg/100ml)	11.4	10.8	5.6	12.2	16.46	9.8	11.4	0.774	ns	***
AGV (mmol/l)	79.03	74.8	48.5	75.6	87.9	94.4	78.2	4.16	ns	***
Acético (%)	69.2	67.7	76.2	71.0	68.8	64.7	61.4	0.83	*	***
Propiónico (%)	19.1	19.6	15.4	18.3	19.8	22.8	20.5	0.80	ns	***
Butírico (%)	1.4	1.4	1.86	1.14	1.10	1.10	1.8	0.10	ns	***
Acido láctico (mg/l)	87.4	71.7	36.6	-	122.5	-	-	6,775	ns	***
Contribución Bacteriana relative										
<i>S.bovis</i>	0.51	0.48	0.25	-	0.74	-	-	0.111	NS	***
<i>S.ruminantium</i>	0.51	0.53	0.36	-	0.68	-	-	0.113	**	NS
<i>M. elsdenii</i>	1.08	1.46	1.18	-	1.35	-	-	0.242	*	T

ns: no significativo; T: P<0.1; *: P<0.05; **: P<0.01; ***P<0.005

La disponibilidad de almidón redujo la proporción de ácido acético y butírico e incrementó la de propiónico (P<0.005). La presencia de flavonoides en el medio, moderó los incrementos en la proporción de ácido acético (P<0.05) y tendió a reducir la tasa acético: propiónico.

La ingestión de forraje dio lugar a niveles de acidez que se situaron el pH entorno a 6.5 (fracción: 0-22), nivel que se situaría dentro del rango descrito en bibliografía para este tipo de raciones (France y Siddons, 1993). Durante el intervalo de ayuno la actividad microbiana descendió paulatinamente y con ello, el pH ruminal aumentó hasta la neutralidad (circa 7.00) y fue más estable. La administración del trigo molido redujo el pH ruminal, los niveles registrados en la fase previa (6.82 ± 0.026), disminuyeron, y lo hicieron de forma diferente entre ambos grupos de terneras, aquellas suplementadas con flavonoides mostraron menores niveles de acidificación (6,29± 0,031 vs 5.98± 0,0287, para FL y CTR, respectivamente; Interac: H x Tr: P<0.005).

La concentración media (mg/l) de ácido láctico incrementó tras la administración de trigo, siendo inferior (P < 0.09) en el grupo de terneras FL (de 36.8 a 106.6 mg/l) que en aquellas que recibieron la ración CTR (de 36.5 a 138.3 mg/l).

En relación a las bacterias productoras [*S. bovis*] o consumidoras de lactato [*S. ruminantium* y *M. elsdenii*] la disponibilidad de almidón dio lugar a un incremento significativo en los títulos de *S. bovis*. Dicho incremento coincidiría con aquellos registrados cuando las situaciones acidóticas son inducidas mediante la sustitución de forraje por concentrados (Tajima *et al.*, 2001). Los títulos de *M. elsdenii* incrementaron (P<0.08) tras la administración del trigo molido, este incremento coincide con los descritos por otros autores con raciones convencionales (Tajima *et al.*, 2001). Numéricamente, la administración de flavonoides redujo la concentración media de *S. bovis* y moderó los incrementos en la concentración de esta especie registrados tras la administración del cereal. Las concentraciones de *S. ruminantium*, incrementaron de forma significativa tras la administración del trigo molido siendo este incremento independiente de la presencia de flavonoides en el medio.

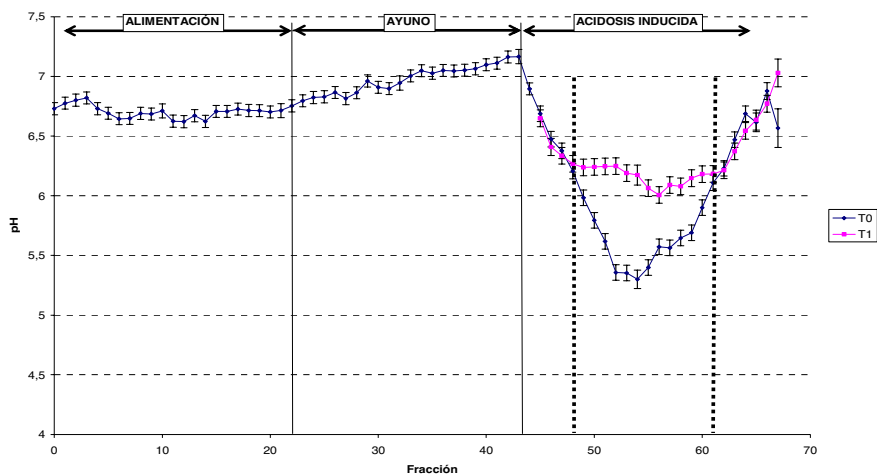


Figura 1: Evolución del pH cuando las terneras recibieron el trigo, con (T1) o sin suplementación (T0) con flavonoides. En el esquema se definen: i) Fracción 0-22: alimentación con forraje; ii) 22-44 ayuno; iii) 44-70 acidosis inducida. Período (- - -) en el cual las diferencias entre tratamientos alcanzaron significación estadística

Los resultados obtenidos indican que la suplementación con Bioflavex® puede ser efectiva reduciendo la incidencia de acidosis ruminales y ello podría estar parcialmente justificado por la modulación ejercida por los flavonoides sobre los títulos de bacterias consumidoras de lactato, tales como la *M. elsdenii*.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICA

Bach, A., Iglesias, C., y Devant, M. . (2007) *Anim. FeedSci. Tech.* **136**, 146-153,. France, J., y R. C. Siddons. (1993). *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*. J. M. Forbes and J. France, ed., CAB Int., New York, NY. Tajima, K., R. I., Aminov, T., Nagamine, H., Matsui, M., Nakamura, y Y. Benno(2001). *Appl. Environ. Microbiol.* 67:2766–2774,. Yu, Z and Morrison, M., (2004)*Biotechniques*.36; 808-812,.

EVALUATION OF FLAVONOIDS BIOFLAVEX® ON RUMINAL FERMENTATION AND MICROBIAL PROFILE IN HEIFERS UNDER INDUCED RUMEN ACIDOSIS

SUMARY: The effect of flavonoids Bioflavex ® (Exquim, SA, Barcelona Spain) on the prevention of rumen acidosis was studied in a 2 x 8 cross-over design using 8 crossbreed heifers (451.4 ± 14.32 kg of LW). Each period consisted of 22 d, from d1 to d20 animals were fed ryegrass hay, on d21 animals were fasted and d22 acidosis was induced by supplying 5 kg of ground wheat through the rumen cannula, the wheat was supplemented with (FL: 0.3 %) or without (CTR) flavonoids. PH decreases after wheat supplementation was lesser (P < 0.05) in FL than in CTR heifers (6.29±0.031 and 5.98± 0.029 for FL and CTR, respectively). Lactate concentration increased (P<0.005) with wheat supplementation being such increase numerically lesser (P < 0.09) in FL (from 36.8 to 106.6 mg/l) than CTR heifers (from 36.5 to 138.3 mg/l). After wheat supplementation, titers of *Streptococcus bovis* and *Selenomonas. ruminantium* increased whereas *Megaesphaera elsdenii* increased only in FL heifers (P < 0.05). These results indicate that supplementation with Bioflavex® may be effective in reducing the incidence of rumen acidosis and it would be partially explained by flavonoids modulation of titers of lactate-consuming microorganisms such as *M. elsdenii*.

Key words: Heifers, acidosis, *S. bovis*, *M. elsdenii*