

NR 02. EFECTO DE LA REDUCCIÓN DE LA POBLACIÓN DE PROTOZOARIOS CILIADOS SOBRE EL FUNCIONAMIENTO RUMINAL EN OVINOS ALIMENTADOS CON TAMO DE TRIGO

Alberto Navas-Camacho¹, Javier E. Cortés Cortés² y Eduardo A. Gutiérrez Mindiola³

¹Programa Nacional de Nutrición Animal - C.I. CORPOICA, Tibaitatá. E-mail: anavasc@hemeroteca.icfes.gov.co. ²Diagonal 41 No. 49-58, Santa Fé de Bogotá, Colombia. E-mail: Insanche@bachue.usc.unal.edu.co. ³Calle 7A No. 12-15, Valledupar, Colombia

Abstract

Effect of reducing the rumen ciliate protozoa population by feeding saponin-containing plants on rumen function of sheep fed on wheat straw

Grazing ruminants depend basically on the efficiency of rumen ecosystem to supply the animal with the protein and energy required for fulfilling the metabolic demands. Nitrogen recycling is a natural process occurring in the rumen which reduces the amount of microbial protein flowing to the duodenum. The present experiment was aimed at evaluating the effect of eliminating (Defaunated group) and reducing the ciliate population by means of using saponin-containing fruits (Michu, *Sapindus saponaria*) at two levels (Michu-2 group (2 g Michu/kg BW) and Michu-4 group (4 g Michu/kg BW)) on the rumen function of sheep. Results showed rumen ciliate population decreased as the level of saponin inclusion in the diet increased. Conversely, cellulolytic bacteria and rumen fungi increased both in Defaunated and Michu-2 groups. However, rate and extent of cell wall rumen degradability were not increased despite the larger fibrolytic microbial biomass. Saponins appears to have a weak acid reaction and therefore work as a buffer for the rumen pH. The level of saponins included in the present experiment did not affect dilution rate neither was the rumen volume affected by defaunation. Growth rate of defaunated animals and of those with ciliated population reduced was 11 % and 39 % faster than that of Control animals. The improved performance may be associated with a larger bacterial flow to the duodenum and a lower nitrogen recycling as suggested by the lower ammonia concentration in the rumen (33 % lower, $P < .05$).

Palabras claves: Funcionamiento ruminal, defaunación, saponinas, protozoarios ruminales.

Key words: Rumen function, defaunation, saponins, rumen protozoa.

Introducción

La mayoría de explotaciones ganaderas en el trópico basan su alimentación en el uso de forrajes de baja calidad, lo cual implica que el estatus nutricional de los animales dependa, fundamentalmente, de la eficiencia del ecosistema ruminal en la producción de AGV y células microbiales (Preston y Leng, 1987). Una alternativa para incrementar el flujo de amino ácidos de origen bacteriano y dietético desde el rumen hacia el duodeno es alteración del tamaño relativo de las poblaciones microbiales ruminales. Se ha identificado que independientemente de la dieta ofrecida a los animales, la eliminación de la población de ciliados incrementa el flujo de proteína bacteriana desde el rumen hacia el duodeno, mejorando de esta forma la respuesta productiva de animales alimentados en base a forrajes, debido a la mejora en el balance proteína:energía en los nutrientes absorbidos. Sin embargo, es importante identificar más claramente las variaciones que en el uso de nutrientes y en la detoxificación de principios tóxicos presentes en la dieta sean inducidas por la defaunación, antes de implementar su uso a nivel comercial. El incremento en la disponibilidad de amino ácidos es de particular importancia para las fases de lactancia y crecimiento temprano y podría obtenerse a través de la reducción drástica de la población de ciliados con base en la incorporación de saponinas en la ración. Dicha alternativa resultaría de mayor aplicabilidad a nivel comercial, y reduciría potenciales efectos deletéreos sobre la digestión y metabolismo animal por la eliminación total de los ciliados. Es, sin embargo, necesario evaluar el efecto de la utilización de saponinas sobre el grado y velocidad de degradación de la fracción fibrosa de la dieta. El presente trabajo se diseñó con el propósito de evaluar el funcionamiento ruminal en ovinos faunados, defaunados y con la población de ciliados reducida en animales alimentados con base en forrajes de baja calidad.

Materiales y métodos

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio del Programa Nacional de Nutrición Animal de CORPOICA CNI- Tibaitatá. Se utilizaron 16 ovejas, enteras de 8 meses de edad, las que se canularon ruminalmente. Los

animales se agruparon al azar en cuatro tratamientos de acuerdo con el tamaño de la población de protozoarios: Control, que permaneció con su microbiota intacta; otro Defaunados (según Burgraff y Leng, 1980) y dos grupos con dos niveles de suplementación con carpio de Michú (*Sapindus saponaria*, 36 % saponinas), así: 2 g/kg PV (Michú-2) que representa un nivel intermedio en la población de ciliados, y 4 g/kg PV (Michú-4) que representa un nivel más bajo que el anterior. Los animales fueron mantenidos individualmente en jaulas metabólicas alimentados con una dieta consistente en: tamo de trigo a voluntad, melaza (100), sorgo (200), urea (2 % del consumo voluntario), torta de algodón (5 % del consumo voluntario), sal mineralizada (20). Agua fresca se ofreció a voluntad. La dieta se ofreció dos veces al día (08:00 y 14:00 h). Los parámetros evaluados fueron: 1. Población microbial: recuento de la población de protozoarios (Dehority, 1984), población de bacterias celulolíticas viables (Cecava *et al.*, 1990) y población de hongos anaerobios ruminales se estimó a través de dos estadios del ciclo de vida (zoosporas viables (Joblin, 1981) y esporangios colonizando fragmentos de tamo (Ushida *et al.*, 1989). 2. Ambiente ruminal: Variación diurna del pH del contenido ruminal. Concentración de nitrógeno amoniacal fue determinada a tres horas postalimentación. 3. Cinética digestiva: degradabilidad *in sacco* de las fracciones dietéticas (FDN, MS y proteína), corrigiendo el potencial total de degradación (a+b) con la tasa de salida de la fracción sólida (asumiendo 5 %/h). La determinación del volumen ruminal y la tasa de dilución de la fracción líquida se utilizó una solución de Cr-EDTA, en una concentración de 2770 ppm Cr. 4. Comportamiento animal: estimación del consumo voluntario de tamo de trigo y del aumento diario de peso. EL análisis estadístico se efectuó con base en Análisis de Varianza y Análisis de medidas repetidas utilizando el paquete SAS.

Resultados y discusión

Las población ruminal de ciliados se redujo en forma directa con el nivel de concentración de saponinas en la ración (67 y 89 % en relación con la población del grupo Control; $P < .01$), lo cual fue igualmente reportado por Navas y col. (1994) y Diaz y col. (1992). Dicha reducción permanece en tanto la fuente de saponinas continúe en la formulación. En nuestro laboratorio hemos observado que una vez las saponinas son eliminadas de la ración, la población de ciliados alcanza la concentración original en un período cercano a los 20 días. Esto nos sugiere que adicional al efecto tóxico de las saponinas sobre el metabolismo celular, se presentan alteraciones ambientales que no permiten que la población tolerante a las saponinas cubra el nicho de los susceptibles.

La población de bacterias celulolíticas y hongos ruminales tendió a incrementar en animales con la población de ciliados reducida o eliminada respectivamente lo cual está asociado con la reducción de la actividad predatoria de los ciliados sobre bacterias (Jouany, 1991) y hongos ruminales (Morgavi *et al.*, 1993). La concentración de amonio en el líquido ruminal fue menor (23 % menor; $P < .01$) en los animales defaunados o con la población reducida en relación con grupo Control lo cual es consistente con la reducción del reciclaje ruminal de nitrógeno. Dicho incremento en el tamaño de las poblaciones celulolíticas no estuvo sin embargo asociado con incrementos claros en la actividad fibrolítica a nivel ruminal. Los estudios de Gude (1985) y Wright *et al.* (1995) en ecosistemas del suelo indican que a pesar de la reducción en el tamaño de poblaciones bacterianas por efecto de la predación de ciliados, la actividad por célula aumenta en forma significativa, sin afectar entonces la actividad microbiológica en el medio. Fenómenos similares pueden estar ocurriendo a nivel ruminal, tal como lo indican los trabajos de Prins (1991).

La corrección de los valores de degradabilidad de la pared celular del tamo de trigo por las tasas de pasaje de partícula, genera valores de digestibilidad de la dieta base que están mejor asociados con las tasas de crecimiento obtenida con animales alimentados con forrajes de baja calidad (ej: tamos sin amonificar). De otra parte, la homogenización con base en el tamizado del tamaño de partícula del material a incubar en el rumen, genera un estimador de la solubilidad (solubilidad y pérdida de partícula) mejor ajustado a los valores reales de solubilidad.

La fracción proteica de la torta de algodón tendió a degradarse a mayor velocidad en las primeras horas de incubación en los animales defaunados que en el grupo Control, lo cual puede estar asociado con la mayor degradación de proteína de alta solubilidad en presencia de mayor concentración de bacterias (Michalowski, 1989). Sin embargo los valores de tasa de degradación de la ecuación exponencial no presentaron diferencias significativas entre tratamientos.

Klita y colaboradores (1996), encontraron que niveles altos de saponinas inhiben las contracciones ruminoreticulares e irritan el epitelio del tracto gastrointestinal. El nivel de inclusión de saponinas utilizado en este experimento no parece haber afectado la frecuencia o intensidad de las contracciones ruminales toda vez que no se observaron diferencias en la tasa de pasaje de la fracción líquida del contenido ruminal (cuadro 1). Sin embargo, los animales que recibieron el nivel alto de Michu (aprox 1.4 g saponinas/kg PV) presentaron reducción drástica del consumo y heces líquidas lo cual seguramente estuvo relacionado con irritación del epitelio por efecto de las saponinas. De otra parte, la defaunación ni la suplementación con saponinas afectaron el volumen ruminal (cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto de la reducción de protozoarios ciliados sobre el funcionamiento y la microbiota ruminal.

Variable	Control	Michu 2	Michu 4	Defaunados
Protozoarios Ciliados x10 ⁵ /mL L.R.	5.54 ^a	1.98 ^b	0.68 ^c	-
Entodiniomorfos x10 ⁵ /mL L.R.	5.41 ^a	1.91 ^b	0.61 ^c	-
Holotricas x10 ⁵ /mL L.R.	0.14 ^a	0.07 ^b	0.07 ^b	-
Bacterias Celulolíticas x10 ¹¹ UFC/mL L.R.	0.89	28.7	ND	ND
Hongos anaerobios				
Zoosporas x10 ⁴ UFT/mL L.R.	1.29	ND	ND	3.09
Esporangios/mm ²	29	10	ND	27
pH (horas PA en que el pH permaneció inferior a 6.0)	12 - 14	- ¹	ND	10-12
ÑNH ₃ mg/100 mL L.R.	48.21 ^a	37.03 ^b	ND	35.55 ^b
Degradabilidad <i>in sacco</i>	ND			
FDN				
a	6.93	4.13	ND	7.20
b	66.83	47.78	ND	63.04
c	0.02	0.03	ND	0.02
Proteína				
a	39.62	32.78	ND	50.51
b	54.91	62.64	ND	45.87
c	0.13	0.14	ND	0.14
Deg. Corregida por Tasa de Pasaje (5%/h)				
FDN	21.55	20.67	ND	22.95
Proteína	78.30	79.25	ND	80.56
Volumen Ruminal (% PV)	20.70	24.21	26.29	21.89
Tasa de Dilución del Fluido (%/h)	5.21	3.91	3.91	4.66
Consumo voluntario de tamo (% PV ^{0.75})	3.37	3.34	3.15	3.71
Aumento diario de peso				
Regresión	24.78 ^a	36.93 ^b	ND	24.95 ^{*a}
Diferencia	27.49 ^a	38.93 ^b	ND	31.17 ^{ab}

Las letras diferentes en igual fila representan diferencias estadísticamente significativas (P<0.05). ND: no determinado. ¹ No presentó pH inferior a 6; * El b para el tratamiento defaunados no fue significativo, P>0.1.

El comportamiento del pH en el tratamiento suplementado con Michú, no afectaría la actividad degradativa de las poblaciones microbiales, por el contrario esta se vería favorecida. En pruebas realizadas en este Laboratorio, el Michú, a un pH de 6.2 presenta una capacidad buffer hacia ácidos más fuertes que él. A esto se deberían los cambios menos fuertes durante el día, en el pH del contenido ruminal.

La mejor respuesta productiva de los animales defaunados y con la población de ciliados reducida, reportada igualmente por Díaz y col. (1992), puede estar asociada con un mayor flujo de proteína bacteriana al intestino delgado (Ushida *et al.*, 1990).

Conclusiones

La respuesta positiva de animales a la inclusión de niveles bajos de saponinas en la ración está asociada con la modificación tanto en el tamaño de las poblaciones microbiales como del medio ambiente ruminal. La inclusión de saponinas en la dieta reduce efectivamente la población de protozoarios ciliados. La reducción de esta población tiende a incrementar las poblaciones de bacterias celulolíticas y de hongos anaerobios, sin embargo este incremento no estuvo asociado con la actividad degradativa, lo cual indica la importancia de evaluar las interacciones de las poblaciones sobre la actividad ruminal. Las saponinas tienen actividad sobre el funcionamiento ruminal y la actividad ruminal, y además parecen mejorar la relación proteína a energía de los nutrientes disponibles para el animal, mejorando, en consecuencia, el aumento diario de peso. Se hace necesario que la digestibilidad total sea corregida con la tasa de pasaje de la partícula para lograr un mayor acercamiento al verdadero potencial

nutricional permitiendo una más adecuada formulación de raciones.

Literatura citada

- Bird, S. H., J. V. Nolan and R. A. Leng. 1989. The nutritional significance of rumen protozoa. En: T. Tsuda, Y. Sasaki and R. Kawashima (Eds.). *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. Academic Press, Tokio, Japon. pp. 151-160.
- Dehority, B. A. 1984. Evaluation of subsampling and fixation procedures for counting rumen protozoa. *Applied and Environmental Microbiology*. 48:182-185.
- Cecava, M. J., L. Merchen, L. C. Gay, and L. L. Berger. 1990. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and isolation techniques. *J. Dairy Sci.* 73:2480-2488.
- Diaz, Aracelis, M. A. Avendaño and A. Escobar. 1992. Use of tropical plants as defaunating agents and its effects on animal metabolism. En: *Dual Purpose Cattle Production Research. Proceedings of the I.F.S. F.M.V.Z./U.A.D.Y. International Workshop*. Merida, Mexico. pp. 23-27.
- Gude, H. 1985. Influence of phagotrophic processes on the regeneration of nutrients in two stage continuous culture systems. *Microbiology and Ecology*, 11:193-204.
- Jouany, J. P. 1991. Defaunation of the rumen. En: J. P. Jouany (Ed.). *Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion*. INRA, Francia. pp. 239-262.
- Klita, P. T., G. W. Mathison, T. W. Fenton and R. T. Hardin. 1996. Effects of alfalfa root saponins on digestive function in sheep. *J. Anim. Sci.* 74:1144-1156.
- Michalowski, T. 1989. Importance of protein solubility and nature of dietary nitrogen for the growth of rumen ciliates in vitro. En: J. V. Nolan, R. A. Leng and D. I. Demeyer (Eds.). *The Roles of Protozoa and Fungi in Ruminant Digestion*. Armidale, Australia. pp. 223-232.
- Morgavi, D., R. Onodera and T. Nagasawa. 1993. In vitro metabolism of chitin and protein from ruminal fungi by ruminal protozoa. *Anim. Sci. and Techn.* 64:584-592.
- Navas, A., M. A. Laredo, Aurora Cuesta, Margarita Romero and Olga Ortega. 1994. Evaluation of tropical trees with high or medium saponin content as dietary alternative to eliminate protozoa from the rumen. En: *Proceeding of the VIII International Symposium on Ruminant Physiology*, Welligen, Germany.
- Newbold, C. J and K. Hillman. 1990. The effect of ciliate protozoa on the turnover of bacterial and fungal in the rumen of sheep. *Letters in Applied Microbiology*, 11:100-102.
- Preston, T. R. and R. A. Leng. 1987. *Matching Livestock Production Systems to Available Resources*. Penambul Books, Armidale, Australia.
- Prins, R.A. 1991. The rumen ciliates and their functions. En: J. P. Jouany (Ed.). *Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion*. INRA, Francia. pp. 39-52.
- Ushida, K., C. Kayouli, S. De Smet and J. P. Jouany. 1990. Effect of defaunation on protein and fibre digestion in sheep fed on ammonia-treated straw-based diets with or without maize. *Br. J. Nutr.* 64:765-775.
- Wright, D. A. Kenneth Killham, Anne Glover and J. Prosser. 1995. Role of pore size location in determining bacterial activity during predation by protozoa in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 61:3537-3543.