

**Estimación de la Síntesis de Proteína Microbiana en el Rumen.
Relación entre el flujo duodenal de bases púricas y la
excreción urinaria de sus derivados metabólicos**

J.F. Pérez, J. Balcells, S.M. Martín Orue y J.A. Guada

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad
de Zaragoza, M. Servet 177. 50013 Zaragoza. España.

INTRODUCCION

La estimación de la síntesis microbiana en el rumen por los métodos convencionales requiere la determinación precisa del N microbiano basándose en la utilización de sustancias marcadoras del flujo y de los cuerpos microbianos. Por ello, dichas estimaciones están sometidas a los errores derivados de las inexactitudes de ambos, marcadores de flujo y de los microorganismos. Por otra parte, la necesidad de utilizar animales canulados y una pauta de muestreo intensivo limita el número de animales a utilizar lo que incrementa el coeficiente de variación de los valores obtenidos, especialmente cuando se evalúan forrajes de baja calidad.

Recientemente han cobrado un cierto interés los métodos indirectos que pretenden estimar el flujo duodenal de N microbiano basándose en la excreción urinaria de derivados púricos (DP). El objetivo del presente trabajo fue el de determinar la relación entre el flujo duodenal de bases púricas (BP) y la excreción urinaria de sus derivados metabólicos, y comparar los valores de síntesis microbiana en el rumen estimados a partir de ambos.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 4 ovejas Rasa Aragonesa con cánulas simples implantadas en rumen y duodeno. La dieta base consistió en 550 g de heno de alfalfa picado, administrada como dieta única o suplementada con 220, 400 o 550 g de cebada molida. La ración fue administrada en 12 tomas diarias mediante alimentadores continuos.

El experimento fue dividido en 4 subperiodos de 20 días de duración en los que cada animal recibió las raciones experimentales en un diseño 4 x 4 al azar. Tras 10 días de adaptación se inició la infusión continua de los marcadores de flujo vía cánula ruminal (Co-EDTA e Yb acetato a un ritmo aproximado de 25 y 50 mg/día de Co e Yb, respectivamente) y la colección completa de heces (d 11-16) y orina (d 14-16). La orina fue recogida mediante catéteres uretrales y mantenida a pH<3 mediante una disolución de H₂SO₄ (10%). Finalizada la colección de heces y de orina (d16) se inició el muestreo de la digesta duodenal (d 17-18) que consistió en la obtención de 8 muestras del quimo (aproximadamente 200 ml) a intervalos de 6 horas. Posteriormente, se retiró la infusión de

marcadores y se procedió a extraer una cantidad aproximada de 750 - 1000 ml de contenido ruminal mediante una bomba de vacío manual. La digesta ruminal fué separada en 2 fases mediante su filtrado a través de 8 capas de gasa. Las muestras bacterianas asociadas a la fase líquida fueron aisladas por centrifugación diferencial del líquido resultante, y las muestras de bacterias adherentes por el mismo procedimiento a partir del líquido resultante de la incubación del residuo del sólido ruminal en una solución salina con carboximetil celulosa (0.5%) durante 15 min seguido por 24h a 4°C.

La concentración de marcadores (Co e Yb) en las muestras duodenales fué determinada por espectrofotometría de emisión por plasma de acoplamiento inductivo, estimando el flujo duodenal a partir del método propuesto por Faichney (1975). La concentración de BP en duodeno y sus derivados metabólicos en la orina fueron determinados por cromatografía líquida de alta resolución. El flujo del N microbiano (g/d) al duodeno fué determinado a partir del flujo de BP al duodeno ($\mu\text{mol}/\text{día}$) y de la relación BP:N en ambas fracciones bacterianas, y a partir de la excreción urinaria de DP en base al modelo de recuperación propuesto por Balcells y col. (1991).

Los datos se sometieron al análisis de varianza siguiendo un diseño factorial al azar. La evolución de la respuesta de los diferentes parámetros a estudio a la suplementación de cebada fué descrita mediante polinomios ortogonales. La comparación entre métodos de estimación y fracciones bacterianas se realizó mediante el test de "t" para valores pareados.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla 1 se presentan la ingestión media de MO digestible (g/día), y el flujo duodenal de BP y de N no amoniacal. Se presenta también el flujo de N microbiano, la concentración de BP en el quimo duodenal y la excreción urinaria de alantoina, cuyos valores medios figuran en la tabla, junto con el total de derivados púricos.

La ingestión de MOD incrementó con el tratamiento experimental de 277 a 680g/d, proporcionando un amplio rango de energía fermentable en el rumen y por lo tanto en los niveles esperados de síntesis microbiana. El incremento en la ingestión de cebada modificó también el flujo duodenal de bases púricas que incrementó linealmente desde 7.5 (en la dieta base) hasta 18.2 mmol/día con el aporte de 400g de cebada; aunque niveles superiores de suplementación provocaron un descenso en el flujo duodenal de BP. La excreción urinaria de alantoina y del total de derivados púricos ($\mu\text{mol}/\text{d}$) incrementó significativamente con el tratamiento experimental, reflejando con ello la evolución de sus precursores metabólicos. De esta forma, se apreció una estrecha correlación entre el flujo duodenal de BP y la excreción urinaria de alantoina ($r=0.83$) o del total de DP ($r=0.85$).

El flujo duodenal de N microbiano estimado a partir de la excreción urinaria de alantoina (Balcells y col., 1991) siguió una evolución similar a los valores derivados del flujo duodenal

de bases púricas, aunque sus valores fueron inferiores ($P < 0.05$) lo que podría ser explicado por una menor recuperación urinaria de BP duodenales a la descrita por Balcells y col. (0.80). Por otra parte, la utilización de la FBL como referencia del total de biomasa que alcanza el duodeno subestimó significativamente los valores estimados a partir de la FBS ($P < 0.05$) reflejando las variaciones en la composición química determinadas entre ambas fracciones.

Tabla 1: Valores medios de ingestión de MO digestible (g/día), flujo duodenal bases púricas (BL $\mu\text{mol/día}$), N no amoniacal (NNA, g/día) y NNA microbiano (NNAm, g/día) estimado a partir de las bases púricas y alantoina y tomando como referencia la composición microbiana (PB/N) de las fracciones bacterianas aisladas del líquido (FBL) o del sólido ruminal (FBS); así mismo es presentada la excreción urinaria de alantoina ($\mu\text{mol/día}$)

		Nivel de Concentrado					
		0	220	400	550	SEM ⁽¹⁾	lin. quad
MO digestible		277	431	555	680	3.8	*** NS
<i>Flujo Duodenal</i>							
Bases Púricas		7467	12129	18199	13496	675.7	*** ***
NNA		12.6	17.59	21.65	20.92	.710	*** *
NNAm							
Purinas	FBL	4.82	7.19	12.01	11.72	.520	*** NS
	FBS	5.83	11.37	14.01	12.71	1.240	*** *
Alantoina	FBL	4.28	5.82	10.08	10.85	.573	*** NS
	FBS	5.17	8.93	11.81	11.45	.472	*** NS
<i>Excreción urinaria</i>							
Alantoina		4646	7062	11620	8769	315.5	*** ***
<i>Composición microbiana</i>							
PB/N	FBL	1.55	1.70	1.53	1.21	.108	* *
	FBS	1.34	1.09	1.31	1.08	.110	NS NS

(1) Error standard de la media

Los resultados indican la existencia de una estrecha correlación entre el flujo duodenal de bases púricas y la excreción urinaria de alantoina, confirmando la validez de dichos compuestos como estimadores del flujo de N microbiano. Sin embargo, las variaciones registradas sugieren la necesidad de profundizar en el estudio sobre la constancia de la recuperación urinaria de las BP absorbidas; así como caracterizar con mayor precisión la composición de la población microbiana que alcanza el duodeno.

BIBLIOGRAFIA

- Faichney G.J. (1975) The use of markers to partition digestion within the gastrointestinal tract of ruminants. in Digestion and Metabolism in the Ruminant (Eds I.W. MacDonald & A.C. Warner) pp 277-291. Armidale University of New England Publishing Unit.
- Balcells J., Guada J.A., Castrillo C., Gasa J. (1991) Urinary excretion of allantoin and allantoin precursors by sheep after different rates of purine infusion into the duodenum. J. agric. Sci. Cambridge 116:309-317