

## MODIFICACIÓN DE LA MICROBIOTA DEL RUMEN MEDIANTE ACCIONES DIRECTAS EN EL ANIMAL PRERUMIANTE Y EN SUS MADRES

Abecia<sup>1</sup>, L., Martín-García<sup>1</sup>, A.I., Martínez<sup>1</sup>, G., Molina-Alcaide<sup>1</sup>, E., Newbold<sup>2</sup>, C.J., y Yáñez-Ruiz<sup>1</sup>, D. R.

<sup>1</sup>Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1. 18008 Granada, España.

<sup>2</sup>IBERS, Aberystwyth University, Aberystwyth, SY23 3DA, Reino Unido.

[leticia.abecia@eez.csic.es](mailto:leticia.abecia@eez.csic.es)

### INTRODUCCIÓN

Tras el nacimiento del rumiante se desarrolla en el rumen una microbiota compleja, incluyendo bacterias fibrolíticas y arqueas metanogénicas, que se establece mucho antes del comienzo de la ingestión de alimentos sólidos (Stewart et al., 1988). Aunque las arqueas metanogénicas colonizan pronto el rumen, el tipo de poblaciones que logran establecerse depende de varios factores. Así, se ha descrito una alta variabilidad individual en la cantidad y diversidad de arqueas metanogénicas en animales procedentes de distintas madres que crecen en las mismas condiciones, indicando que la madre es el origen fundamental de las arqueas metanogénicas presentes en los rumiantes jóvenes (Skillman et al., 2004). Por otro lado, trabajos recientes sugieren que la naturaleza de la dieta suministrada en etapas tempranas de la vida del rumiante ejerce un efecto mayor y más duradero sobre la microbiota del rumen que la dieta que el animal recibe durante la edad adulta (Yáñez-Ruiz et al., 2010). Ello indicaría que la estructura de las poblaciones microbianas que se establecen en el animal joven, durante el desarrollo del rumen, puede persistir a largo plazo, haciendo posible predeterminar la microbiota ruminal del animal adulto.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el modelo de fermentación y los grupos microbianos mayoritarios en el rumen de cabras en lactación y de su descendencia cuando, en ambos grupos, se utilizaba o no un aditivo con acción anti-metanogénica.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 18 cabras de raza murciano-granadina ( $43 \pm 1,7$  kg de peso vivo) alojadas en habitáculos individuales y alimentadas con heno de alfalfa y concentrado (1:1) en cantidad suficiente para producir 2 L/día de leche. Tras el parto se repartieron al azar en dos grupos experimentales, a uno de los cuales (M+) se le administró, durante el período de lactación de las crías (8 semanas), un hidrocarburo alifático halogenado, denominado bromoclorometano (BCM) al 10-12% en una matriz de  $\alpha$ -ciclodextrina, en dos tomas diarias (6 mg de BCM/kg PV/día). A las cabras control (M-) no se les suministró el aditivo mencionado.

La mayoría de las cabras parieron dos chotos (ch), de los cuales uno recibió, desde semana siguiente al parto, el preparado BCM (ch+) y el otro no (ch-), independientemente de que la dieta de la madre incluyese o no el aditivo, resultando 4 grupos experimentales de chotos (n=8): M+/ch+, M+/ch-, M-/ch+, M-/ch-. La pauta de administración de BCM a los chotos fue la misma que la empleada con las madres. Para estudiar el efecto del preparado en el ecosistema ruminal de madres y crías, en el momento del destete y antes de la toma de alimento de la mañana, se tomó de ambos una muestra de contenido ruminal a través de sonda gástrica. Mediante cromatografía de gases se analizó la concentración en ácidos grasos volátiles (AGVs) y se cuantificaron los grupos microbianos más abundantes empleando PCR a tiempo real (Yáñez-Ruiz et al., 2010). A continuación, los chotos se distribuyeron en cuatro corrales independientes, en función del tratamiento experimental que recibían, donde se mantuvieron durante otro mes, al final del cual se volvieron a recoger muestras del contenido ruminal de la manera antes descrita y se sometieron a los análisis también descritos.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento recibido por las cabras no modificó la concentración total de AGV en el rumen (Tabla 1). Sin embargo, las proporciones molares de estos sí se vieron afectadas ( $P < 0,001$ ) por la presencia del aditivo, incrementándose la proporción de ácido propiónico y disminuyendo las de isobutírico e isovalérico así como la relación acético:propiónico. El número de copias de bacterias totales, arqueas metanogénicas y protozoos presentes en las cabras, no mostró ninguna diferencia ( $P > 0,05$ ) debida al tratamiento.

Tabla 1. Efecto de la adición de bromoclorometano (BCM) a cabras (C) y chotos (ch) sobre el perfil de ácidos grasos volátiles y el recuento de los tres grupos microbianos mayoritarios en el rumen en el momento del destete y un mes tras el mismo (+1mes).

Madres		Adición de BCM				EEM	P-valor	
		M+		M-				
AGV totales (mM)		7,44	5,85	0,879	0,2157			
% Acético		60,3	61,2	1,15	0,5901			
% Propiónico		15,5	11,1	0,543	0,0000			
% Isobutírico		3,78	5,24	0,210	0,0002			
% Butírico		13,54	13,51	0,665	0,9735			
% Isovalérico		4,52	6,44	0,347	0,0015			
% Valérico		2,30	2,46	0,224	0,6150			
Acetato/Propionato		3,92	5,63	0,258	0,0003			
Log <sub>10</sub> copias del gen/g MF								
Metanogénicas		7,88	7,96	0,161	0,7525			
Bacterias Totales		10,3	10,0	0,116	0,1235			
Protozoos		9,57	9,54	0,077	0,8103			
Chotos		M+		M-		EEM	P-valor	
		ch+	ch-	ch+	ch-		Madres	chotos
AGV totales (mM)	Destete	6,04	9,43	3,79	4,12	1,505	0,0333	0,2474
	+1 mes	17,3	20,2	23,5	17,2	4,101	0,6897	0,6784
% Acético	Destete	58,7	68,8	55,8	70,5	2,526	0,8188	0,0009
	+1 mes	62,1	65,8	59,9	63,4	2,15	0,2777	0,0973
% Propiónico	Destete	20,6	15,3	19,1	14,9	1,620	0,5870	0,0165
	+1 mes	19,1	15,3	22,3	18,7	2,68	0,2261	0,1718
% Isobutírico	Destete	3,68	2,98	4,47	3,10	0,786	0,5741	0,2211
	+1 mes	1,68	2,04	1,68	2,00	0,422	0,6623	0,2312
% Butírico	Destete	9,90	7,43	11,7	5,65	1,778	0,9945	0,0401
	+1 mes	14,0	12,8	13,4	12,6	1,400	0,7805	0,4745
% Isovalérico	Destete	4,98	4,10	5,83	4,30	0,833	0,5956	0,2421
	+1 mes	1,85	2,60	1,50	1,84	0,511	0,2786	0,2847
% Valérico	Destete	2,20	1,48	3,00	1,65	0,296	0,1345	0,0067
	+1 mes	1,31	1,48	1,62	1,50	0,158	0,3037	0,8703
Acetato/Propionato	Destete	2,93	4,51	3,02	4,80	0,291	0,5904	0,0007
	+1 mes	3,79	4,42	2,97	3,57	0,472	0,0843	0,1943
Log <sub>10</sub> copias del gen/g MF								
Metanogénicas	Destete	7,63	8,19	7,28	7,02	0,328	0,0271	0,6605
	+1 mes	7,31	7,96	6,72	7,81	0,289	0,2215	0,0065
Bacterias Totales	Destete	10,4	10,5	10,3	10,1	0,134	0,0664	0,7684
	+1 mes	9,97	10,4	9,93	10,4	0,124	0,8257	0,0033
Protozoos	Destete	8,64	9,37	8,73	8,13	0,528	0,2954	0,8982
	+1 mes	9,68	9,79	9,68	9,74	0,165	0,8872	0,5948

En el momento del destete el contenido ruminal de los chotos con madres M+ mostró una mayor (P=0,03) concentración de AGV totales frente al de chotos con madres M-. Las proporciones de ácidos acético, propiónico, butírico y valérico del contenido ruminal de los chotos al destete también se afectó por el tratamiento del choto (P<0,01) y, por ello, también lo hizo la relación acético:propiónico (P<0,001), siendo menor en los ch+ que en los ch-. Estas diferencias no se apreciaron un mes después del destete, salvo en la relación acético:propiónico, que mostró una tendencia (P=0,08) a permanecer menor en los chotos de

madres sin tratar. Por otro lado, el aditivo sí afectó el número de arqueas metanogénicas en el rumen de los chotos tanto al destete ( $P=0,03$ ) como un mes después ( $P=0,007$ ). En el momento del destete se observó un efecto de la madre, siendo mayor el número de arqueas metanogénicas en los chotos con madres M+. Un mes después del destete las diferencias se debieron sólo al tratamiento de los chotos, con valores mayores para los ch-. El número de bacterias totales en los chotos al destete no se vio modificado por el tratamiento pero sí hubo una tendencia a ser mayor ( $P=0,06$ ) en chotos de madres tratadas. Al igual que ocurrió con las arqueas, un mes después del destete las diferencias ( $P=0,003$ ) en bacterias totales se debieron al tratamiento de los chotos, siendo mayor el número de bacterias totales en los ch- que en los ch+. La concentración de protozoos ruminales no fue afectada por ninguno de los tratamientos experimentales.

El descenso en la proporción acetato:propionato del rumen ha sido descrita como característica del uso de compuestos que disminuyen la formación de metano y promueven el uso de hidrógeno para reducir ácidos grasos de cadena corta (Denman et al., 2007). En las cabras adultas, cuyo rumen tiene unas condiciones más estables que en el animal joven, la concentración de las poblaciones microbianas no parece verse afectada por el aditivo, aún cuando éste afecte al modelo de fermentación. Sin embargo, en un rumen en desarrollo, como el de los chotos, el cambio en el modelo de fermentación fue acompañado por un efecto a nivel microbiano, tanto en arqueas como en bacterias totales. Este efecto, en un principio, parece estar asociado al tratamiento que reciben las madres, y, a medio plazo, depende sólo del tratamiento que reciben las crías.

Nuestros resultados sugieren que el manejo de la dieta, en un estadio temprano de la vida del rumiante, puede promover cambios en la microbiota que coloniza el rumen que modifiquen la fermentación ruminal. Esta respuesta puede estar también influenciada por un componente materno. El estudio de la estructura de las poblaciones microbianas que colonizan el rumen en estas etapas posiblemente aporte más información sobre el proceso de colonización ruminal.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Denman SE, Tomkins NW, McSweeney CS. 2007. FEMS Microbiol Ecol. 62:313-322.
- Skillman LC, Evans PN, Naylor GE, Morvan B, Jarvis GN, Joblin KN. 2004. Anaerobe. 10:277-285.
- Stewart CS, Fonty G, Gouet P. 1988. Anim Feed Sci Tech 21:69-97.
- Yáñez-Ruiz DR, Macías B, Pinloche E, Newbold CJ. 2010. FEMS Microbiol Ecol. 72:272-278.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por la Comisión Europea (Marie Curie Reintegration Grant 224816). L. Abecia agradece la concesión de un contrato postdoctoral del programa JaeDoc del CSIC. También se agradece la asistencia técnica a I. Jiménez.

#### PROGRAMMING RUMEN MICROBIAL ECOSYSTEM THROUGH THE INTERVENTION ON THE EARLY LIFE STAGE OF PRE-RUMINANTS AND THEIR MOTHERS

**ABSTRACT:** This experiment was designed to study the effect of treating animals in early life and the mothers with an antimethanogenic compound (bromochloromethane, BCM) on rumen fermentation and microbial profiles and the persistency of the effects in the medium term. Eighteen goats giving birth to two kids were used. Nine goats were treated with BCM (M+ goats) after giving birth and over 8 weeks. The other 9 goats were not treated (M- goats). One kid per mother in both groups was treated with BCM (ch+) while the other was untreated (ch-), therefore resulting in four kids experimental groups: M+/ch+, M+/ch-, M-/ch+ and M-/ch-. Rumen samples were collected once from the mothers before weaning (at 8 weeks) and twice from the kids: at weaning and a month after weaning (while ch+ were still treated). BCM treatment on mothers did not affect either total amount of VFA or microbial counts, although the acetate:propionate ratio decreased as well as in the rumen of kids at weaning and a month later. In the rumen of kids, archaea and bacteria were affected by mother's treatment at weaning and by kid's treatment one month later, being lower the numbers in treated animals. Results suggest that an early intervention in the diet of young animals could have an effect on the development of the adult rumen ecosystem.

**Keywords:** archaea, bromochloromethane, rumen colonization