

EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE PULPA DE NARANJA SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS, LOS METABOLITOS FECALES Y EL MICROBIOMA INTESTINAL EN CERDOS DE ENGORDE

Ferrer^{1,2}, P., Calvet², S., Roca³, M., Cambra-López², M. y Cerisuelo¹, A.

¹Centro de Investigación y Tecnología Animal. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Pol. La Esperanza 100, 12400 Segorbe, Castellón. ²Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia. ³Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Torre A, Avda. Fernando Abril Martorell 106, 46026 València. Email: ferrer_pabrie@gva.es

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales retos a los que se enfrenta el sector ganadero es la búsqueda de materias primas alternativas que permitan incrementar la eficiencia y sostenibilidad de las explotaciones. El uso de subproductos agroindustriales, como la pulpa de naranja deshidratada, subproducto típicamente mediterráneo procedente de la industria de los zumos, constituye una alternativa con ventajas medioambientales y económicas, respecto a las materias primas nobles empleadas habitualmente en piensos de engorde en monogástricos. Además, su inclusión en la dieta conlleva el aporte de fibra dietética que a su vez constituye el principal sustrato para la fermentación bacteriana, jugando un papel importante en el control de la salud intestinal. Su utilización en piensos de cerdos de cebo sin afectar negativamente a los rendimientos productivos ha sido descrita por varios autores (Amorim *et al.*, 2014; Watanabe *et al.*, 2010). Sin embargo, no existe información detallada sobre el efecto de la incorporación de pulpa de naranja sobre la salud intestinal, especialmente sobre el microbioma intestinal y los metabolitos fecales en cerdos de engorde. En base a ello, el objetivo planteado en el presente trabajo fue evaluar el efecto de la inclusión de pulpa de naranja deshidratada en la dieta sobre los rendimientos productivos, el microbioma intestinal y los metabolitos fecales en cerdos de cebo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 80 cerdos Du x (LDxLW) de 25,3 ± 3,02 kg de peso vivo que se distribuyeron en 16 corrales a razón de 5 animales/corral. Los animales se alimentaron con un pienso comercial hasta los 70 kg de vida, momento en que se inició la administración del pienso experimental consistente en 2 tratamientos (8 corrales/tratamiento). Los piensos experimentales fueron formulados para ser isonutritivos, diferenciándose en el nivel de inclusión de pulpa de naranja deshidratada; 0% de inclusión (C) y un 24% de inclusión (PN) respectivamente. Durante todo el periodo experimental (96 días) los animales se pesaron cada 15 días, registrándose al mismo tiempo el consumo de pienso. Así mismo, en los días 46 y 90 del ensayo, coincidiendo con el cambio al pienso experimental y el final del ensayo, respectivamente, se realizó un muestreo de heces de dos animales/corral para el estudio del microbioma intestinal y el metaboloma fecal. Las heces se obtuvieron de forma aséptica y se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido, conservándose a -80°C hasta su posterior análisis. En cuanto al metaboloma fecal, únicamente se analizaron las muestras correspondientes al muestreo final del ensayo mediante un análisis metabolómico no dirigido, empleando un equipo UPLC-QTOF 6550 Agilent. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un análisis multivariante para posteriormente realizar una identificación "tentativa" de metabolitos. Para el estudio del microbioma intestinal se extrajo el ADN empleando un protocolo comercial modificado, evaluando la cantidad y calidad de ADN. A continuación, se generó una librería de secuenciación capturando la región hipervariable del 16s rRNA bacteriano. El microbioma bacteriano se obtuvo mediante la plataforma MySeq (Illumina). Las secuencias en bruto se filtraron en función de la calidad, se fusionaron y se anotaron.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran, a modo de resumen, los resultados obtenidos en el ensayo productivo. Se observan valores muy similares entre tratamientos, con pesos medios finales

en torno a 128 kg. Se detecta una tendencia ($P=0,063$) a la reducción en el consumo medio diario en los cerdos alimentados con pulpa de naranja, con valores que varían entre los 3,33 kg para el C y los 3,18 kg en PN que podrían estar asociados al efecto saciante de la fibra soluble que contiene la pulpa de naranja (Montagne *et al.*, 2003). La ganancia media diaria obtenida durante el periodo de administración del pienso experimental también fue muy similar con ambos piensos con valores en torno a 1,15 kg/animal y día.

Respecto a los resultados del metaboloma fecal, el análisis multivariante muestra que las principales variables discriminantes entre tratamientos son los metabolitos asociados a las sales biliares y metabolitos fenólicos. Gran parte de los flavonoides de la dieta no son absorbidos en el intestino delgado alcanzando el colon, donde ejercen su efecto modulador del microbioma (Dueñas *et al.*, 2015). Los polifenoles identificados en el metaboloma de los cerdos alimentados con la dieta PN se encuentran en la corteza de los cítricos por lo que su presencia se atribuiría directamente a la pulpa de naranja de los piensos.

En la Figura 1 se muestra la abundancia relativa de los principales géneros bacterianos obtenidos en el análisis del microbioma intestinal en función de la dieta. Tras las siete semanas de administración del pienso experimental, se observan diferencias significativas en los géneros bacterianos, destacando la reducción de *Clostridium* y el aumento de *Lactobacillus* con la inclusión de la pulpa de naranja en la dieta. Dichos cambios, en el microbioma fecal, se asocian a un aumento en la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y una reducción en la producción de amoníaco (NH_3) en el intestino de los cerdos, lo que a su vez favorece el crecimiento de bacterias beneficiosas como los lactobacilos (Jha y Leterme, 2012; Pieper *et al.*, 2008). También se analizó el microbioma del muestreo inicial (no se muestran los resultados) para asegurar que no existían diferencias significativas entre animales antes de la introducción de los piensos experimentales.

Los resultados indican que es posible el uso de pulpa de naranja en cerdos de engorde sin afectar a los parámetros productivos, mejorando la salud intestinal y que enfoques integradores con el análisis combinado del metaboloma y microbioma permiten evaluar los efectos exógenos y endógenos y, por tanto, generar información sobre cómo cambios en la alimentación pueden afectar a la salud intestinal.

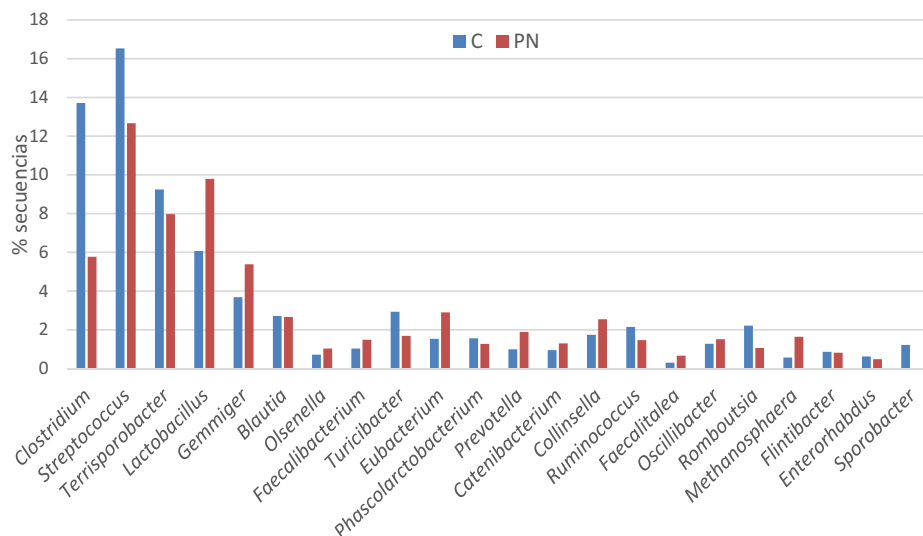


Figura 1. Abundancia relativa de los distintos géneros bacterianos del microbioma intestinal en el muestreo final.

Tabla 1. Valores medios de peso inicial y final, consumo medio diario (CMD), ganancia media diaria (GMD) e índice de conversión (IC).

	Dietas ^a		
	C	PN	P valor
Peso inicial (kg)	71,8 ± 6,77	70,8 ± 4,90	0,728
Peso final (kg)	128,9 ± 6,66	126,8 ± 6,64	0,548
CMD (kg pienso/animal)	3,33 ± 0,13	3,18 ± 0,18	0,063
GMD (kg PV/animal) ^b	1,16 ± 0,055	1,14 ± 0,08	0,735
IC (kg pienso/Kg PV) ^b	2,85 ± 0,077	2,78 ± 0,15	0,313

^aC y PN: 0 y 24% de inclusión pulpa de naranja deshidratada, respectivamente.

^bPV: peso vivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amorim, A.B., Thomaz, M.C., Ruiz, U., Martínez, J.F., Pascoal, L.A.F., Daniel, E., Watanabe, P.H. & Rosalen, D.L. 2014. Citrus pulp and enzyme complex for growing and finishing pigs, Rev. Bras. Saúde Prod. Anim. • Dueñas, M., Muñoz-González, I., Cueva, C., Jiménez-Girón, A., Sánchez-Patán, F., Santos-Buelga, C., Moreno-Arribas, M.V., Bartolomé, B. 2015. A Survey of Modulation of Gut Microbiota by Dietary Polyphenols. Biomed Res. Int. 2015, 1–15. • Jha, R. & Leterme, P. 2012. Feed ingredients differing in fermentable fibre and indigestible protein content affect fermentation metabolites and faecal nitrogen excretion in growing pigs. Animal 6, 603–611. • Montagne, L., Pluske, J.R., Hampson, D.J. 2003. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. Anim. Feed Sci. Technol. 108, 95–117. • Pieper, R., Jha, R., Rossnagel, B., Van Kessel, A.G., Souffrant, W.B. & Leterme, P. 2008. Effect of barley and oat cultivars with different carbohydrate compositions on the intestinal bacterial communities in weaned piglets. FEMS Microbiol. Ecol. 66, 556–566. • Watanabe, P.H., Thomaz, M.C., Ruiz, U.S., Santos, V.M., Masson, G.C.I., Fraga, A.L., Pascoal, L.A.F., Robles-Huaynate, R.A. & Silva, S.Z. 2010. Carcass characteristics and meat quality of heavy swine fed different citrus pulp levels. Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec.

Agradecimientos: Este trabajo forma parte del proyecto AGL2014-56653-C3-2-R financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad.

EFFECT OF THE INCLUSION OF ORANGE PULP ON GROWTH PERFORMANCE, FAECAL METABOLITES AND INTESTINAL MICROBIOME IN FATTENING PIGS

ABSTRACT: An experiment was conducted to determine the effects of including orange pulp in diets, focusing on its effects on growth performance, gut microbiome and faecal metabolome. Two finishing diets were formulated to be isonutritive, a control (C) diet and a diet with orange pulp included at a 24% (OP). Eighty finishing male pigs Du x (LDxLW) of 71,2±5,83 kg body weight (BW) were divided in these two treatments. During the finishing period (70 to 120 kg BW, 50 days) average daily gain, average daily feed intake and feed conversion ratio were recorded. On days 56 and 90 of the study, faecal samples from the rectum of 16 animals per treatment were analysed for gut microbiome and faecal metabolome from day 90. No significant differences between treatments were found in performance, except for the average feed intake that tended to be lower (P=0.063) with the OP diets. The gut metabolome profile at the final sampling showed significant differences in genera between the animals fed the C and OP diets, highlighting Clostridium and Lactobacillus. Regarding the faecal metabolome, the main variables discriminating between treatments were the metabolites associated with bile salts and polyphenols derived compounds.

Keywords: Orange pulp, swine, metabolome, microbiota.