

LA DIETA PREPARTO AFECTA AL COMPORTAMIENTO Y LA RESPUESTA INFLAMATORIA DE LOS CORDEROS TRAS UN PERIODO DE MANEJO AVERSIVO POSTDESTETE

Averós¹, X., Beltrán de Heredia¹, I., Granado¹, I., Arranz¹, J., García-Rodríguez¹, A., Ruiz¹, R., Elguezábal², N., Atxaerandio¹, R.

¹Departamento de Producción Animal, Neiker-Tecnalia. Arkaute (Álava-Araba).

²Departamento de Sanidad Animal, Neiker-Tecnalia. Derio (Bizkaia);

xaveros@neiker.eus

INTRODUCCIÓN

La suplementación con ácidos grasos funcionales, como los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) ricos en omega-3 (ω -3), beneficia el estatus inmunitario de la oveja gestante debido a sus efectos antiinflamatorios, antioxidantes e inmunomoduladores (Caroprese et al., 2015). Dichos beneficios pueden potenciarse mediante estrategias nutricionales, a través del uso de forrajes ricos en taninos, que contribuyen a mitigar la biohidrogenación ruminal (Vasta et al., 2009), y se transfieren al cordero a través de modificaciones del perfil de ácidos grasos y composición del calostro (Wathes et al., 2007). Dadas las interacciones ecosistema intestinal, funcionalidad del sistema inmune y respuesta al estrés, es probable que la suplementación de la oveja gestante con PUFA ω -3 y combinada con una fuente de taninos también beneficie la salud y bienestar de la descendencia, y que dichos efectos se mantengan en el tiempo (Cryan y Dinan, 2012). En este sentido, las estrategias de nutrición son una medida de mejora continua del bienestar, promoviendo la resiliencia y la capacidad adaptativa de los animales frente a los retos a los que se enfrentan (infecciones y enfermedades). En el contexto del uso racional de medicamentos, se precisa profundizar en el diseño de alternativas de manejo que promuevan una mayor resiliencia de los corderos a los retos impuestos por los sistemas de producción. El objetivo de este estudio fue determinar los efectos de la suplementación durante el último tercio de gestación con PUFA- ω -3, combinada con un forraje rico en taninos, sobre el comportamiento y la respuesta inflamatoria de corderos sometidos a un periodo de manejo aversivo postdestete (modelo de estrés teórico).

MATERIAL Y MÉTODOS

Trabajo evaluado por el OEBA-CE Neiker (2017-007). Se aplicaron 2 dietas a 48 ovejas Latxa multíparas (24 ovejas/dieta, 2 réplicas/dieta) durante las últimas 5 semanas de gestación: control (CO; 450 g MS de pienso control + 1 kg MF de silo de maíz/día y oveja y heno de festuca (*Festuca pratensis ad libitum*), y suplementada con lino (L; 450 g MS de pienso rico en PUFA- ω -3 (Valorlex®, Francia) + 1 kg MF de silo de maíz/día y oveja y heno de esparceta (*Onobrychis viciifolia ad libitum*). Se monitorizaron 20 partos para seleccionar 20 corderos (10 de cada sexo), que se pesaron, identificaron, encalostraron a biberón (10% de su PV) durante las primeras 18 h de vida, y alojaron en 2 recintos experimentales (número de corderos/tratamiento equilibrado por recinto). Tras el encalostrado los corderos se alimentaron con leche artificial y pesaron semanalmente. A los 35 días del último parto monitorizado (PV=17,0 \pm 0,4 kg), los corderos se destetaron y pasaron a alimentación sólida. Tras 5 días de adaptación los corderos se pesaron y se sometieron a un periodo de manejo aversivo (PMA) de 12 d, consistente en 2 inmobilizaciones diarias de 30 min (Destrez et al., 2013). Los corderos se pesaron a los 6 y 12 d del inicio del PMA y se extrajo una muestra de sangre con EDTA al inicio y final del mismo. Finalizado el PMA, el comportamiento de los corderos se estudió mediante test de aislamiento social y de motivación social (Averós et al., 2015), y después se les sometió a un reto inflamatorio (RI) mediante inoculación intradérmica en la zona escapular de 1 ml de fitohemaglutinina (PHA; Sigma-Aldrich, Madrid) 1mg/ml; Marini et al., 2015). Se midieron el grosor (pie de rey) y temperatura (medidor láser) cutáneos pre-RI, y las mediciones se repitieron a las 24, 48 y 72 h post-RI. De cada cordero se obtuvo una muestra de sangre con EDTA después de los tests de comportamiento, y a las 24, 48, y 72 h post-RI con PHA. Dichas muestras se centrifugaron (2000 g, 10 min), y el plasma se conservó a -80°C hasta su análisis. De todas las muestras de plasma se determinó la concentración de cortisol, y de las muestras 24, 48 y 72 h post-RI también se determinó la concentración de interleucina (IL)-2. Ambas concentraciones se determinaron mediante kits ELISA comerciales (Cusabio, TX, USA).

Los datos se analizaron con modelos lineales mixtos generalizados. El PV de los corderos durante el PMA se analizó con medidas repetidas, con el PV al nacimiento como covariable; duración de la gestación (d), tipo de parto (simple/múltiple), sexo (macho/hembra), dieta (CO/L), día, e interacciones dobles entre sexo, tratamiento y día como efectos fijos; y recinto como efecto aleatorio. El cortisol plasmático durante el PMA se analizó con medidas repetidas, con sexo, tratamiento, día, e interacciones dobles como efectos fijos, y recinto como efecto aleatorio. El comportamiento durante los test se analizó con sexo, tratamiento e interacción como efectos fijos, y fecha de test, grupo de test, y recinto como efectos aleatorios. El cortisol plasmático al final de los test se analizó con la concentración pre-test como covariable, sexo, tratamiento, e interacción como efectos fijos, y recinto como efecto aleatorio. El grosor y temperatura cutánea, cortisol e IL-2 plasmáticos durante RI se analizaron con medidas repetidas. Los valores pre-RI se usaron como covariable; sexo, tratamiento, tiempo, e interacciones dobles como efectos fijos; y recinto como efecto aleatorio. Los análisis se realizaron con el PROC GLIMMIX (SAS 9.4, Cary, NC, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El PV al final del PMA se vio afectado por dieta×sexo, con corderos CO no mostrando un efecto del sexo, y L mostrando un PV superior en machos respecto de hembras (20,0±1,0 y 17,7±0,9 kg respectivamente; P=0,026). Aunque los corderos L partían de valores inferiores, se observó una tendencia, en éstos, hacia valores de cortisol más elevados al final del PMA respecto de los valores iniciales (178,9±25,2 y 124,0±17,2 ng/ml respectivamente; P=0,080) que no se observó en corderos CO (160,4±19,7 y 159,9±19,6 ng/ml respectivamente). Durante el test de aislamiento social, los corderos L tendieron a mostrarse inactivos con menos frecuencia que los CO (44,2±8,7 % y 53,4±8,8 % respectivamente; P=0,058), y a vocalizar más (75,7±6,4 y 68,6±6,0 vocalizaciones para L y CO respectivamente; P = 0,096). Los machos intentaron escapar más frecuentemente que las hembras (19,4±7,7 % y 7,5±3,6 % respectivamente; P=0,002), las trayectorias de sus desplazamientos fueron menos tortuosas (dispersión angular de 0,37±0,03 y 0,29±0,02 para machos y hembras respectivamente; P=0,034), y tendieron a vocalizar más (76,1±6,5 y 68,2±5,8 vocalizaciones para machos y hembras respectivamente; P=0,064). Durante el test de motivación social, los corderos L interaccionaron con sus compañeros más frecuentemente que los CO (39,9±10,0 % y 24,3±7,8 % respectivamente; P=0,002), y tendieron a mantenerse de pie inactivos menos frecuentemente que los CO (41,8±8,7 % y 51,1±9,0 % respectivamente; P=0,058). Las trayectorias de los movimientos tendieron a ser menos tortuosas en corderos L respecto de los CO (dispersión angular 0,32±0,03 y 0,24± 0,02 respectivamente; P=0,051). Los machos tendieron a vocalizar menos que las hembras (11,3±2,3 y 14,5±2,8 vocalizaciones; P=0,079). La latencia de llegada a los otros corderos tendió a verse afectado por dieta×sexo (Tabla 1), de manera que, dentro de L, los machos tendieron a tardar menos tiempo que las hembras. Dicha interacción afectó al porcentaje de tiempo pasado en la región contigua a sus compañeros, con las dietas L acentuando el tiempo pasado por las hembras respecto de los machos. Las excreciones totales también se vieron afectadas por dicha interacción, siendo el número de excreciones totales en corderos L inferior al de corderos CO sólo en hembras. Los valores de cortisol de los corderos inmediatamente después de los test no se vieron afectados por la dieta (P=0,801) ni por el sexo (P=0,999).

Tabla 1. Variables para las que la interacción dieta×sexo fue significativa (P<0,05) o mostró tendencia (P<0,10) durante el test de motivación social.

	CO (Control – festuca)		L (Lino – esparceta)		P
	Macho	Hembra	Macho	Hembra	
Latencia llegada corderos (s)	2,4±0,5	2,2±0,4	1,5±0,3	4,2±1,2	0,090
Tiempo cerca corderos (%)	85,3±10,2 ^c	92,1±5,9 ^b	89,6±7,6 ^{bc}	98,4±1,3 ^a	<0,001
Excreciones totales (n)	0,03±0,27 ^{ab}	0,77±0,27 ^a	0,25±0,28 ^{ab}	0,00±0,27 ^b	0,022

Dentro de una fila, los valores medios con distinto superíndice indican diferencias significativas (p<0,05).

Durante RI, el grosor y la temperatura cutáneas variaron significativamente (P<0,001 y P=0,038, respectivamente), con los valores disminuyendo significativamente a las 72 h post-RI respecto a las 24 y 48 h (0,97±0,04, 0,89±0,03 y 0,75±0,02 cm a las 24, 48 y 72 h,

respectivamente de grosor cutáneo; $32,6\pm 0,3$, $32,4\pm 0,3$ y $32,0\pm 0,3$ °C a las 24, 48 y 72 h respectivamente, de temperatura cutánea). La dieta no afectó a los valores del grosor de piel y de temperatura cutánea ($P=0,523$ y $P=0,823$, respectivamente). Los valores de cortisol durante RI fueron superiores en corderos CO respecto de L ($P=0,034$; Tabla 2), y variaron de manera significativa durante RI, siendo máximos a las 24 h ($98,6\pm 11,4$ ng/ml), y disminuyendo de manera gradual a las 48 y 72 h ($72,8\pm 10,5$ y $65,8\pm 10,5$ ng/ml respectivamente; $P=0,034$). Los valores de IL-2 durante RI fueron significativamente superiores en corderos L respecto a CO (Tabla 2), con la diferencia entre dietas tendiendo a ser más marcada en machos que en hembras ($51,1\pm 0,1$ y $51,7\pm 0,5$ pg/ml para machos y hembras CO, y $55,8\pm 2,1$ y $52,4\pm 0,6$ pg/ml para machos y hembras L; $P=0,051$).

Tabla 2. Concentraciones plasmáticas medias de cortisol e IL-2 durante el reto inflamatorio (RI) según la dieta preparto.

	CO (Control – festuca)	L (Lino – esparceta)	P
Cortisol (ng/ml)	$83,2 \pm 10,1$	$74,9 \pm 8,0$	0,034
IL-2 (pg/ml)	$51,4 \pm 0,2$	$53,8 \pm 0,9$	0,003

En conclusión, la dieta preparto afectó al comportamiento y la respuesta inmune de los corderos sometidos a un manejo aversivo tras el destete, observándose que dichas respuestas fueron moduladas por el sexo de los corderos. Los datos son prometedores aunque sería necesaria una caracterización más detallada de la respuesta inmune para poder concluir sobre el efecto beneficioso de la modulación de la respuesta inmune debida a la dieta rica en PUFA – $\omega 3$.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Averós, X., Marchewka, J., Beltrán de Heredia, I., Zanella, A.J., Ruiz, R., Estevez, I. 2015. Appl. Anim. Behav. Sci. 163: 98-109.
- Caroprese, M., Giannenas, I., Fthenakis, G.C., 2015. Vet. Microbiol. 181: 8-14.
- Cryan, J.F., Dinan, T.G. 2012. Nature Rev. Neurosci. 13: 701-712.
- Destrez, A., Deiss, V., Leterrier, C., Boivin, X., Boissy, A. 2013. Animal 7: 476-484.
- Marini, D., Pippia, J., Colditz, I.G., Hinch, G., Petherick, J.C., Lee, C. 2015. Aust. Vet. J. 93: 265-270.
- Vasta, V., Makkar, H.P.S., Mele, M., Priolo, A. 2009. British J. Nut. 102: 82-92.
- Wathes, D.C., Abayasekara, D.R.E., Aitken, R.J. 2007. Biol. Reprod. 77: 190–201.

Agradecimientos: Departamento de Desarrollo Económico e Infraestructuras del Gobierno Vasco (iniciativa de uso racional de antibióticos en ganadería). A Nerea Mandaluniz, Juan Carlos Ochoa de Zuazola, M^a Ángeles Cuesta y Ekaitz Ibarrondo.

PREPARTUM DIET AFFECTS THE BEHAVIOUR AND INFLAMMATORY RESPONSE OF LAMBS SUBJECTED TO AN AVERSIVE HANDLING PROCEDURE POST-WEANING

ABSTRACT: to determine the effects of pre-natal PUFA-omega-3 supplementation on behaviour and inflammatory response of lambs subjected to aversive handling (AHP) after weaning, 20 lambs, born from 48 Latxa ewes subjected to 2 treatments during 5 weeks pre-lambing (CO: 500 g control feed/ewe and day; L: 500 g of feed rich in PUFA-omega-3/ewe and day), were fed with corresponding colostrum (10% BW) and separated from mothers. Lambs were weaned at $17,0\pm 0,4$ kg, and subjected to AHP (immobilization during 30-min, twice per day) during 12 days. Lambs were then subjected to 2 behavioural tests and to a PHA, inflammatory challenge (IC). BW after AHP was affected by treatment*sex, L males being heavier than L females ($P=0,026$). During social motivation tests, latency to get to other lambs tended to be shorter in L males regarding L females ($P=0,090$). Treatment*sex affected the time spent close to other lambs with L females spending particularly longer than CO females ($P<0,001$). CO females excreted more than L females ($P=0,022$). During IC, cortisol was higher in CO lambs ($P=0,034$), while IL-2 was higher in L lambs ($P=0,030$). Prepartum supplementation affected the behaviour and inflammatory response of lambs subjected to aversive handling after weaning, although sex modulated this effect.

Keywords: lamb, resilience, welfare, immune system.