

Determinación de Nutrientes y Parámetros Ruminales en Bovinos

André Camargo¹, Marques Ubiratan², Schneck Antonio³

¹Facultad de Biología, University of Matanzas, Cuba

²Facultad de Ciencias Veterinarias, University of Holguin, Cuba

³Facultad de Ciencias, Universidad de Camagüey, Cuba

Resumen: En el ganado, la alimentación rica en energía provoca un aumento en el tamaño de las papilas del rumen y conduce a una considerable proliferación de la mucosa. En animales alimentados con dietas de baja y alta energía, la mucosa del rumen reveló una reducción progresiva y una proliferación intensiva, respectivamente.

Palabras clave: Ganado, Nutriente, Ruminal, Alta Energía

1. Introducción

El tamaño de las papilas ruminales y conduce a una considerable proliferación de la mucosa. En animales alimentados con dietas de baja y alta energía, la mucosa del rumen reveló una reducción progresiva y una proliferación intensiva, respectivamente [1]. La intensidad de la fermentación ruminal aumenta con la ingesta creciente de concentrado y simultáneamente los ácidos grasos volátiles que se producen promueven el desarrollo estructural del epitelio ruminal [2].

Hasta el momento, no se han llevado a cabo investigaciones suficientes o nulas sobre los efectos de la dieta sobre el desarrollo de la mucosa del intestino delgado. Según Tivey y Smith, los cambios en el desarrollo de los enterocitos y en la estructura de las vellosidades determinan la capacidad digestiva y de absorción del intestino delgado [3]. Kreikemeier y col estudiaron la actividad de las enzimas de digestión de carbohidratos en toros Holstein y Longhorn y observaron que estaba influenciada por el tipo de dieta y el nivel de consumo de alimento. Mir y col consideraron la longitud de las vellosidades y la actividad de la amilasa de la mucosa como un factor importante en la absorción de nutrientes; registraron diferencias en estos parámetros entre las diferentes razas de ganado, de los cuales los toros Holstein tuvieron la mayor actividad de lactasa y las vellosidades más largas en la parte media del intestino [4].

El objetivo de esta investigación fue examinar los efectos de la alimentación extensiva e intensiva en la morfología del tracto gastrointestinal, así como en el nivel de actividad de las enzimas de carbohidrasas en el intestino delgado de los toros en crecimiento [5].

2. Material y métodos

Catorce toros machos de raza negra (9 Deutsche Holstein Frisian - DH, 5 Deutsche Fleckvieh - DF), de 5 meses de edad e inicialmente de aproximadamente 134 kg de peso corporal (BW) se dividieron en dos grupos para cría intensiva y extensa (4 DH + 3 DF y 5 DH + 2 DF, respectivamente). Los animales criados intensivamente se alojaron en un establo convencional con pesebres divididos para alimentación individual [6]. La dieta experimental consistió en paja de cebada y una mezcla concentrada granulada como componentes principales en una proporción de DM de 28: 72 (82.0 ± 0.5 MJ ME / d). La dieta se ofreció dos veces al día en partes iguales a las 6.00 y 14.00 h con agua disponible en todo momento. Durante el verano, los animales del grupo criado extensamente pastaban en un potrero y en invierno, en particular de octubre a mediados de mayo, fueron alojados en un establo similar al grupo criado intensivamente [7]. La dieta experimental se basó en pasto de pradera en pastos y ensilaje marchito en el establo, la proporción media de fibra para concentrar MS en la dieta fue 94: 6 (67.8 ± 0.6 MJ ME / d). La composición media y el contenido de nutrientes de las dietas alimentadas entre los meses 5 y 18 de vida se dan en la Tabla 1. En el pasto, la ingesta de alimento de los animales se calculó por su ganancia diaria de peso corporal. Los pesos corporales se registraron aproximadamente a la misma hora en intervalos de 28 días. Los animales fueron sacrificados a los 18 meses de edad y 16 horas después de la última alimentación. El peso medio final de la columna antes del sacrificio fue de 616 ± 39 kg y 511 ± 52 kg en el grupo de cría intensiva y extensa, respectivamente. Las respectivas ganancias de peso diarias promedio fueron 1211 ± 99 y 960 ± 123 g [8].

Se extrajo fluido ruminal del rumen perforado inmediatamente después del sacrificio. Para la actividad enzimática y las determinaciones morfológicas, se obtuvieron muestras dentro de los 30 minutos posteriores al sacrificio. Las muestras duodenales (aproximadamente 10 cm de longitud) se tomaron de un sitio distal a 50 cm del

esfinterpilórico, las yeyunales del yeyuno medio (centroaproximado del yeyuno). Se obtuvieron muestras ileales a 50 cm proximales de la unión ileocecal. La mucosa se obtuvo raspando muestras del tracto intestinal con un portaobjetos de vidrio. Se obtuvieron muestras de la pared del rumen destinadas al examen morfológico de sitios idénticos del saco ruminal ventral (aproximadamente 5 cm caudales de la pila craneal)[9].

Para determinar la actividad de la carbohidrasa, las muestras intestinales se enjuagaron con una solución salina fría (solución de cloruro de sodio al 0,9% p / vol), se congelaron en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C hasta el análisis[10]. La actividad de lactasa, celobiosa y maltasa se midió de acuerdo con Mir et al. (1987) En detalle, las muestras de mucosa (200 mg) se homogeneizaron durante 3 minutos con 1 ml de solución salina. El homogeneizado se transfirió a un tubo de ensayo junto con 2,5 ml de solución salina (alícuota 2x). Se llenaron tres tubos de reacción con 100 μl del homogeneizado y se colocaron en un baño de agua a 37°C , luego se agregaron 400 μl de 56 mmol de lactosa, maltosa o celobiosa en tampón de citrato (pH 6.6, 0.01 mmol), respectivamente. Después de agitar e incubarse durante 30 minutos, la actividad enzimática se detuvo en agua hirviendo. Los tubos de reacción se centrifugaron a $2.000 \times g$ (10 min, 5°C) usando un Varifuge 3.0R (Heraeus Sepatech GmbH, Osterode, Alemania). La galactosa y la glucosa en el sobrenadante se determinaron por el método UV (UV-Test Lactose / D-Galactose No. 176303 y D-Glucose No. 716251, BöhringerMannheim, Alemania). La actividad de la enzima se expresó como mg de galactosa o glucosa hidrolizada por hora por mg de proteína cruda. Para este último, el contenido de nitrógeno se determinó mediante un analizador elemental (Leco, CNS-2000; St. Joseph, EE. UU.) Y el valor obtenido se multiplicó por 6,25.

3. Resultados

Se fijaron muestras ruminales e intestinales (1 cm^2) en solución de formalina al 4%. Después de enjuagar con agua, las muestras se deshidrataron en una serie graduada de etanol absoluto (30%, 50%, 70%, 90%), se aclararon con benceno, se saturaron y se embebieron en parafina. Secciones de 7 μm de espesor (10 cortes de cada muestra) se tiñeron con hematoxilina / eosina y se observaron con un microscopio óptico. La longitud de 10 vellosidades y la profundidad de 10 criptas se determinaron mediante el sistema de análisis de imagen Image C operado por computadora (Intronic GmbH, Berlín, Alemania) y el programa de análisis IMES, utilizando una cámara de video en color (Sony 3 CCD) y un microscopio óptico (Axiolab, Carl Zeiss Jena, Alemania). Se utilizó el mismo sistema para observar la longitud y el ancho de las papilas ruminales y para estimar su número por cm^2 de mucosa. La superficie total de las papilas por cm^2 de mucosa se determinó como longitud \times ancho \times 2, multiplicada por el número de papilas por cm^2 .

El crudo seco (DM), la proteína cruda (CP), la fibra cruda (CF) y las cenizas en las dietas experimentales se determinaron de acuerdo con el procedimiento estándar de Weender. El contenido de energía se calculó mediante la ecuación de predicción de energía metabolizable en alimentos combinados. Las concentraciones de SCFA en muestras de fluido ruminal se determinaron por cromatografía de gases con ácido caprónico como patrón interno usando un Shimadzu GC-14A con un FFAP 25m \times 0.25 mm i. re. columna. El pH se midió con un electrodo de vidrio y la concentración de amoníaco se determinó por el método de microdifusión.

Los resultados fueron analizados estadísticamente por Statistica-Software de StatSoft Inc. (versión 6.0). Se usó un ANOVA de dos factores con interacciones (grupo de alimentación y raza) para determinar la importancia de las diferencias entre los grupos de alimentación. Los resultados se presentan como medias \pm DE.

Al evaluar el nivel de fermentación ruminal en toros, es importante tener en cuenta que los animales fueron sacrificados 16 horas después de la última alimentación. Este hecho se hizo evidente en la evaluación estadística de los parámetros individuales de la fermentación ruminal en la que no se pudieron establecer diferencias significativas. Se incrementaron los niveles de ácido fólico y volátil total (VFA) y ácido acético y ácido butírico en el contenido ruminal de toros criados extensivamente. Los niveles de ácido propiónico en los animales criados extensivamente fueron más bajos que en los criados intensivamente (16.4 vs. 18.6% en moles). Aunque los valores anteriores difirieron numéricamente, esta diferencia no tenía significación estadística. En los toros criados intensivamente, la relación acetato / propionato también disminuyó. Los niveles de amoníaco en el contenido del rumen fueron altos en ambos grupos, pero ligeramente superiores en los animales manejados extensivamente.

En el grupo de cría intensiva, la longitud y el ancho de las papilas ruminales del saco ruminal ventral aumentaron significativamente ($P < 0,001$) en comparación con el grupo extenso de collar. No hubo diferencias significativas entre el número de papilas por cm^2 .

La superficie papilar por cm² de mucosa en el collar criado intensamente alcanzó 1 677 mm² y aumentó significativamente ($P < 0,001$) en comparación con el grupo extenso (1 044 mm²).

Las diferencias dependientes de la alimentación en la fermentación ruminal influyen en el desarrollo de la mucosa ruminal. Se sabe por la literatura que las dietas ricas en concentrados causan un aumento en la producción de VFA (principalmente ácido propiónico y butírico), estimulando así el metabolismo del epitelio ruminal, el desarrollo estructural y la actividad de reabsorción de este último. No pudimos observar diferencias significativas en el nivel de fermentación ruminal ya que los animales habían sido sacrificados 16 horas después de la última alimentación, sin embargo, se afirmó que la superficie de reabsorción de las papilas ruminales por cm² de mucosa estaba aumentada en el grupo de animales criados intensamente, que recibió mayores cantidades de concentrado.

La longitud de las vellosidades duodenales en el grupo intensivo aumentó de manera singular ($P = 0.026$) mientras que la de las vellosidades yeyunales se acercó a los límites de significación ($P = 0.052$) en comparación con el grupo grande. No se pudieron observar diferencias significativas en la longitud de las vellosidades ileales. En el grupo intensivo, las criptas eran más profundas en el duodeno (309 μm), este valor se acercó a los límites de significancia ($P = 0.065$) en comparación con el grupo grande (285 μm). En el yeyuno y el íleon las diferencias fueron muy pequeñas, sin embargo, aumentaron en el grupo intensivo.

Algunos coeficientes de correlación resultaron ser bastante interesantes. La longitud de las vellosidades yeyunales se correlacionó positivamente con la longitud ($r = 0.658$; $P = 0.011$; $n = 14$) y la superficie de reabsorción de las papilas ruminales ($r = 0.636$; $P = 0.015$; $n = 14$).

Mir y col informaron que las longitudes de las vellosidades en el intestino medio de diferentes razas son comparables, sin embargo, supuso que las vellosidades relativamente más largas en la raza Holstein podrían influir en la absorción total de nutrientes. Kreikemeier y col presumieron que la superficie de absorción representaba el aspecto mucoso de las vellosidades disponibles para la translocación de nutrientes. Estos autores observaron la mayor superficie de absorción en el área proximal del intestino delgado bovino y también registraron que la superficie de absorción aumenta con el aumento de la ingesta de granos. El último hallazgo coincide con nuestros resultados que revelaron una mayor cantidad de vellosidades duodenales y yeyunales en animales alimentados con dietas elevadas concentradas (grupo criado intensamente).

4. Conclusión

Actividades de carbohidrasas En el período experimental, los grupos observados no revelaron diferencias estadísticamente significativas en la actividad de las enzimas carbohidrasas individuales (maltasa, celobiosa, lactasa). Las diferencias entre los valores demostraron ser mínimas, con la única excepción de la actividad de la lactasa en la mucosa duodenal (0,61 y 0,34 μmol de lactosa hidrolizada mg CP / h en los animales criados intensamente y extensamente, respectivamente), que, sin embargo, no fue ni 0,18. significativo ($P = 0.16$). Se observó una correlación positiva entre la actividad de maltasa y la profundidad de las criptas ileales ($r = 0.588$; $P = 0.027$; $n = 14$).

En contraste con nuestros hallazgos Mir notar diferencias en la actividad de lactasa. Estas diferencias podrían haber resultado de las vellosidades relativamente más largas en algunas razas que podrían haber influido en la absorción general de nutrientes en los animales. Por otro lado, Kriekemeier informaron que la actividad de la maltasa mucosa depende del consumo de alimento y del sitio de muestreo. De manera similar a nuestros hallazgos, los autores más recientes también observaron que la actividad de la lactasa mucosa es mayor en los segmentos proximales del intestino delgado. La expresión de lactasa también podría verse afectada por aumentos en la proliferación de células de cripta. Por el contrario, Shirazi-Beechey encontraron que las enzimas digestivas intestinales no están reguladas por la dieta, lo que coincide con nuestros resultados.

En animales criados intensamente que reciben mayores cantidades de concentrados, no solo se observó un aumento en la superficie de absorción de las papilas ruminales sino también en la altura de las vellosidades duodenales y yeyunales. Este hecho fue confirmado por la correlación positiva entre los parámetros morfológicos de la mucosa ruminal e intestinal. La actividad de la carbohidrasa mucosa en el intestino no fue influenciada.

Referencias

- [1] Vázquez-Vázquez, C., García-Hernández, J.L., Salazar-Sosa, E., Murillo-Amador, B., Orona-Castillo, I., Zúñiga-Tarango, R., Rueda-Puente, E.O., Preciado-Rangel, P. (2010) "Alfalfa (*Medicago sativa* L.) forage

- nutritional value and yield at different cattle manure doses”, *Tecnica Pecuariaen Mexico*, 48(4), pp. 363-372.
- [2] Paz Júnior, C.J., Almeida, H.J.O., Júnior, H.A.F., D'Alencar, A.S., Galindo, M.K.F., Jesus, V.I.T., Alves, L.C., Faustino, M.A.G. (2010) “Frequency of *Tritrichomonas foetus* (RIEDMULLER, 1928) infection in dairy cattle from Sanharócounty-Pernambuco state-Brazil”, *Medicina Veterinaria*, 4(1), pp. 6-11.
- [3] Palacios-Espinosa, A., Espinoza-Villavicencio, J.L., Guerra-Iglesias, D., Fundora, D.G.-P., de la Peña, R.L. (2010) “Direct and maternal genetic effects for weaning weight in a Zebu beef cattle population in Cuba”, *Tecnica Pecuariaen Mexico*, 48(1), pp. 1-11.
- [4] Ruíz-Flores, A., García-Munguía, C.A., Núñez-Domínguez, R., Ramírez-Valverde, R., López-Ordaza, R., García-Muñiza, J.G. (2011) “Inclusion of inbreeding coefficients into genetic evaluation models for jersey and brown swiss cattle in Mexico”, *Tecnica Pecuariaen Mexico*, 2(4), pp. 381-391.
- [5] Guimarães, A.M., Carvalho, A.H.O., Daher, D.O., da Rocha, C.M.B.M., Hirsch, C. (2011) “Seroprevalence and risk factors for *Babesia bovis* in dairy cattle from region southern Minas Gerais state, Brazil”, *Ciencia e Agrotecnologia*, 35(4), pp. 826-832.
- [6] Dos Santos, G.A., Afonso, M.C.C., Sousa, I.O., Gomes, A.L., dos Santos, J.P., Ferreira Júnior, Á. (2018) “Search for anti-leptospira spp. Agglutinins in cattle from serra da canastra, minas gerais”, *Medicina Veterinaria (Brazil)*, 12(4), pp. 270-275.
- [7] Neumann, M., Leão, G.F.M., Leslei Caroline, D.S., Fabiano, M., Eloize Jaqueline, A. (2018) “Double seal in corn silage in confined cattle production”, *Revista de Ciencias Agroveterinarias*, 17(1), pp. 100-106.
- [8] da Silva, L.A.F., Eurides, D., de Souza, L.A., de Oliveira, B.J.N.A., Helou, J.B., Fonseca, A.M., Cardoso, L.L., de Freitas, S.L.R. (2012) “Treatment of umbilical hernia in cattle”, *Revista Ceres*, 59 (1), pp. 39-47.
- [9] Trujillo, A.G., Iglesias, D.G., Serrano, N.A., Espinosa, A.P., Pérez, R.O., Villavicencio, J.L.E. (2012) “Parameters and genetic trends for weight at weaning and 18 months of age in red Zebu cattle in Cuba”, *Tecnica Pecuariaen Mexico*, 3(1), pp. 19-31.
- [10] Fernandes, L.O., Reis, R.A., Paes, J.M.V. (2010) “Supplementation effect on the performance of beef cattle steers maintained in *Brachiaria brizantha* cv. Marandu pasture”, *Ciencia e Agrotecnologia*, 34(1), pp. 240-248.

Determination of Nutrient and Ruminant Parameters in Cattle

Abstract

In cattle, energy-rich feeding causes an increase in the size of rumen papillae and leads to considerable mucosa proliferation. In animals fed low and high energy diets rumen mucosa revealed progressive reduction and intensive proliferation, respectively.

Keywords: Cattle, Nutrient, Ruminant, High Energy