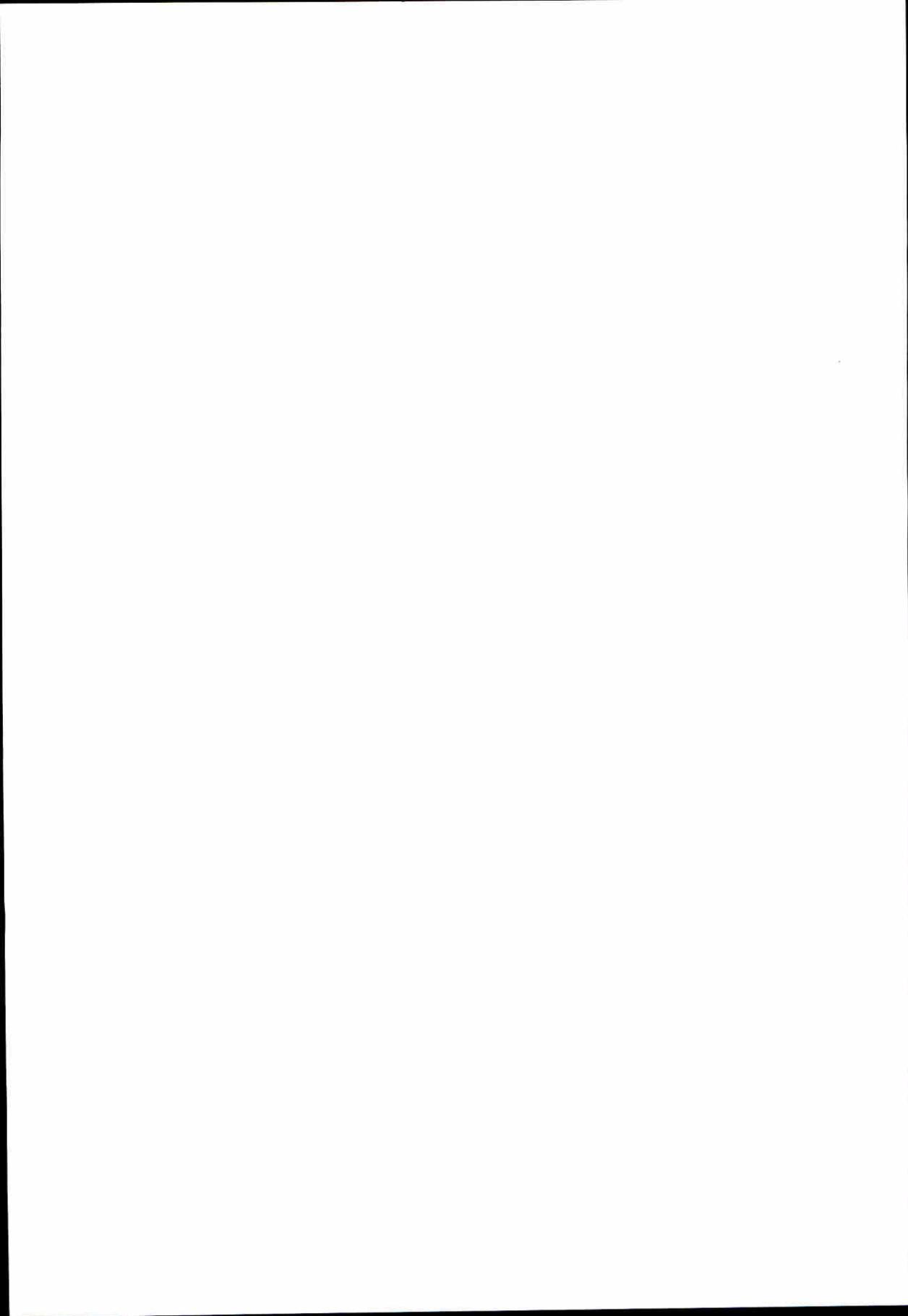


CAPÍTULO VI.4

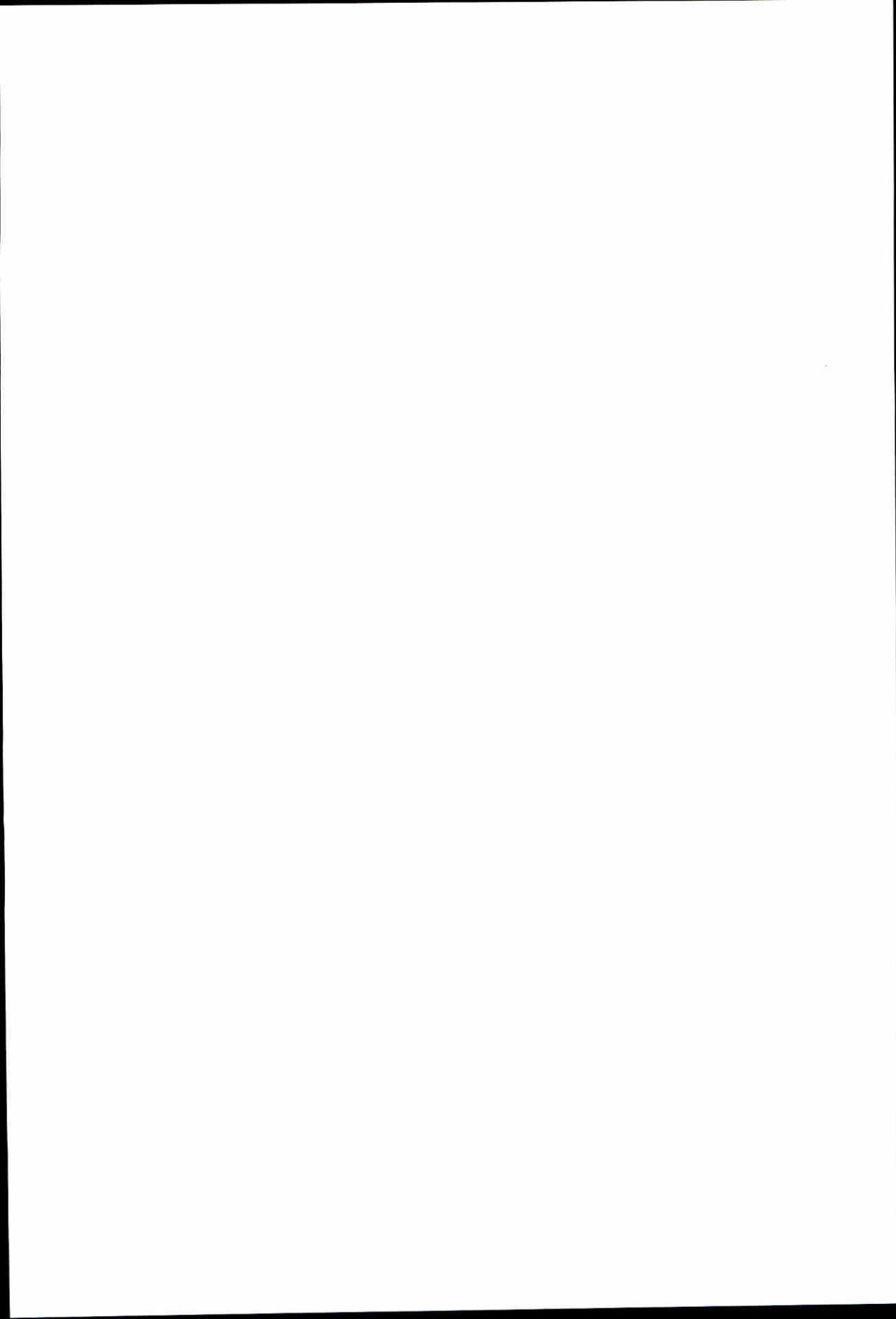
LA EXCRECIÓN RENAL DE DERIVADOS PÚRICOS COMO UN ÍNDICE DE LA INGESTIÓN DE NITRÓGENO MICROBIANO EN CONEJOS

Alvaro Belenguer



ÍNDICE

0. Introducción
 1. Material y Métodos
 2. Resultados y discusión
 - 2.1. Crecimiento e índice de transformación
 - 2.2. Ingestiones y digestibilidades
 - 2.3. Caracterización de la fermentación fecal
 - 2.4. Composición química de heces y cecotrófos
 - 2.5. Excreción urinaria de derivados púricos
 - 2.6. Excreción de cecotrofos: comparación entre ambos métodos de estudio
 3. Resumen
- Principales fuentes bibliográficas
- Agradecimientos



0. Introducción

Al igual que los rumiantes, los herbívoros monogástricos han desarrollado compartimentos de fermentación para optimizar la acción de la flora sobre los carbohidratos estructurales dada la incapacidad orgánica de poder digerirlos. No obstante, mientras que los rumiantes pueden aprovechar los cuerpos bacterianos resultantes del proceso de fermentación como fuente de proteína, esta capacidad se pierde cuando los compartimentos de fermentación se sitúan tras la digestión enzimática y consecuentemente esta fuente de proteína es excretada con las heces.

Para aprovechar estas fuentes de nutrientes algunas especies como el conejo han desarrollado un mecanismo denominado **cecotrofia**, que combina una retención selectiva de partículas en el ciego con cierta forma de coprofagia. Estos mecanismos resultan en la producción de dos tipos de heces, las heces duras y los cecotrofos que son ingeridos directamente en el ano. La ingestión de cecotrofos cubre, según los diferentes autores, entre un 10 y un 50 por 100 de la proteína ingerida (Hörnigke y Björnhag, 1980) y su composición se sabe relacionada con el contenido en N y en fibra de la dieta (Proto et al., 1968). Por tanto el ciego constituye una cámara de fermentación susceptible de ser utilizada para minimizar el aporte de proteína y/o AA de la dieta.

No obstante, dicha manipulación se ha visto limitada por la falta de una metodología adecuada para que la estimación de la síntesis microbiana sea fácilmente aplicable y no altere la fisiología digestiva del propio animal.

En nuestro departamento, recientemente, se ha estudiado la validez de la excreción urinaria de derivados púricos (DP) como índice del

flujo de bases púricas (BP) a través del duodeno y de la ingestión de N microbiano si estas pueden ser utilizadas como marcador de este sustrato. La excreción urinaria de DP permite estimar el flujo duodenal de BP (Ganuza, 1998), que en los animales cecotrofálicos, tiene dos componentes.

- a. El componente dietético.
- b. El microbiano,

procedente de la reingestión de heces blandas o cecotrofos que puede ser estimado por diferencia entre el flujo total y la ingestión de BP dietéticas.

No obstante, la aplicación práctica de dicho modelo requiere previamente su contraste con los métodos convencionales de medida así como su variación potencial ante las modificaciones en la dieta.

1. Material y Métodos

Se utilizaron 64 conejos machos de raza Neozelandesa en periodo de cebo con una edad aproximada de 45 días y un peso vivo entre 1,5 y 1,6 Kg. Estos animales se distribuyeron en lotes de 8 individuos y cada lote recibió una de las raciones experimentales. Las raciones se formularon para modificar la ingestión de carbohidratos no estructurales (CNS) y estructurales (CHE). La composición química de las raciones se presenta en el cuadro 1 y durante la totalidad del periodo experimental se administraron «ad libitum».

Cuadro 1. Composición química (%) sobre MS de las raciones experimentales formuladas en base a dos tipos de CNS (cebada -C- y maíz-M) y de CHE (heno de alfalfa -H- y pulpa de remolacha -P), administrados a dos niveles (alto -A- y bajo -B).

	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 5	Dieta 6	Dieta 7	Dieta 8
	ACBP	BCAP	AMBP	BMAP	BCAH	ACBH	BMAH	AMBH
% MS	93,37	94,35	92,66	93,38	94,14	92,43	93,64	92,24
% MO	94,04	93,55	95,04	93,57	91,14	92,13	91,23	93,14
% almidón	29,18	10,61	29,33	9,8	10,92	23,93	11,73	34,12
% FND	28,22	41,66	31,7	42,99	40,27	29,28	40,92	27,46
% FAD	17,25	24,26	18,00	24,45	26,59	18,15	26,16	16,53
% LAD	2,69	4,79	4,06	4,44	5,53	3,4	4,99	3,12
% PB	17,62	14,97	17,14	15,16	17,33	17,83	16,75	16,61
% EE	1,58	2,31	2,08	1,93	2,71	1,75	3,13	2,68
% cenizas	5,96	6,45	4,96	6,43	8,86	7,87	8,77	6,86

MS, materia seca; MO, materia orgánica; PB, proteína bruta; EE, extracto etéreo; FND, fibra neutro detergente; FAD, fibra ácido detergente; LAD, lignina ácido detergente..

Fuente: Elaboración propia.

Cada período experimental tuvo una duración de 21 días, la primera semana cada lote de animales permaneció en una jaula colectiva adaptándose al alimento. En el segundo subperíodo (7 días) los animales se trasladaron a jaulas individuales donde se continuó con la adaptación de los animales a la ración y controló la ingestión voluntaria de alimento, en el último subperíodo los animales fueron alojados en jaulas metabólicas para proceder a las diferentes pruebas experimentales. Tras dos días de adaptación a las jaulas se procedió al balance de digestibilidad y la colección de orina (día 3 al día 6), el último día (día 7) se procedió a la fijación de collares para evitar la cecotrofia y permitir la colección de heces duras y cecotrofos. Los animales se pesaron al inicio y final de cada subperíodo. Al finalizar el periodo experimental cuatro animales fueron sacrificados para llevar a cabo la extracción y muestreo del contenido digestivo.

Las heces fueron recogidas diariamente, se pesaron, agruparon individualmente y se almacenaron a -21°C . Tras la colocación del collar se recogieron conjuntamente las heces secas y cecotrofos, que se almacenaron a -21°C . La separación de heces y cecotrofos se realizó manualmente tras la descongelación de las muestras para su análisis. La orina se recogía diariamente en recipientes que contenían ácido sulfúrico para mantener niveles de $\text{pH} < 3$ y evitar su contaminación. La alícuota de orina se pesó diariamente y un 10 % del total se diluyó hasta 200 ml. con agua destilada para evitar la precipitación del ácido úrico, almacenándose conjuntamente los 4 días de colección a -20°C hasta el posterior análisis.

Tras el sacrificio de los animales se procedió a la separación y segmentación del intestino. Se determinó el peso de ciego y colon completos y vacíos. En el caso del ciego se determinó también el volumen.

El contenido del ciego se muestreó para la determinación de NH_4 y ácidos grasos volátiles (AGV) (acidificadas con HCl 0.2 N y 0.5 M H_3PO_4 , 50 mM- 3 metil valerato, respectivamente).

El resto del contenido cecal se empleó para la extracción de bacterias cecales mediante centrifugación diferencial (500 g y 5 min, 20000 g y 20 min) tras ser sometido inicialmente al proceso de desligamiento propuesto por Minatto y Sutto (1981). Los extractos bacterianos finalmente fueron liofilizados.

El contenido en MS del alimento, heces y cecotrofos se determinó mediante desecación en estufa (60°C 48 horas). Las muestras una vez secas se molieron a 1 mm. para el resto de determinaciones analíticas. El contenido en cenizas se determinó mediante incineración en mufla a 550°C durante 8 horas. La determinación total de N del alimento, cecotrofos y heces frescas, y bacterias se llevó a cabo mediante el método Kjeldhal siguiendo la modificación del ácido bórico propuesta por Scales y Harrison (1920). La determinación de FND, FAD y LAD en alimento se realizó según el método propuesto por Goering y Van Soest (1975) realizando un pretratamiento amilolítico (Van Soest

y col., 1991). El extracto etéreo en el alimento se realizó mediante su extracción con éter etílico (AOAC, 1990).

En el contenido cecal se analizó el contenido en AGV mediante cromatografía de gases (GLC) siguiendo la técnica descrita por Jouany (1982), y el amoniaco mediante la técnica colorimétrica descrita por Chaney y Marbach (1962) basada en la reacción de Berthelot (fenol-hipoclorito). Los DP en orina (alantoína, ácido úrico, xantina, hipoxantina) fueron analizados por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), de acuerdo con la técnica descrita por Balcells y col. (1992). Adenina y Guanina en las muestras de alimento (70 mg.), cecotrofos y bacterias cecales (15 mg.) se determinaron por la misma técnica con la modificación propuesta por Martín-Orué (1995).

Los resultados se sometieron a un análisis de varianza según un diseño factorial $2 \times 2 \times 2$ en el que se determinó la significación de los factores a estudio (tipo de carbohidrato no estructural, TCN; tipo de carbohidrato estructural, TCE y nivel de inclusión de carbohidratos, NC) con 8 animales por tratamiento según el modelo:

$$X_{ijk} = \mu + TCN_i + TCE_j + NC_k + (TCN \times TCE)_{ij} + (TCN \times NC)_{ik} + (TCE \times NC)_{jk} + (TCN \times TCE \times NC)_{ijk} + E_{ijkl}$$

2. Resultados y Discusión

2.1. Crecimiento e índice de transformación

En la cuadro 2 se presenta el ritmo de crecimiento y el índice de transformación (IT) de los animales utilizados. Los ritmos de crecimiento presentaron un valor medio de $23,06 \pm 0,967$ g/d, a partir de un peso medio inicial de $1,6 \pm 0,013$ Kg a los 45 días de edad, hasta un peso medio final de $2,1 \pm 0,024$ Kg a los 66 días. No se apreciaron diferencias relacionadas con el tipo de carbohidrato no estructural.

Al comparar las raciones con diferente proporción de hidratos de carbono, aquellas con una elevada proporción de CNS dieron lugar a mayores ritmos de crecimiento ($26,4$ vs $19,8$; $P < 0,001$) y menores índi-

ces de transformación (IT) (4,5 vs 5,3; $P < 0,01$). Del mismo modo dependiendo del tipo de CHE se observaron diferentes ritmos de crecimiento. Así cuando los CHE procedían del heno de alfalfa los crecimientos fueron superiores a los registrados con la pulpa de remolacha (25,6 vs 20,4; $P < 0,001$).

Coincidiendo con la bibliografía consultada la mayor proporción de CNS incrementa la disponibilidad energética de la ración y con ello el ritmo de crecimiento, disminuyendo los IT (de Blas, 1986; Gidenne, 1992; Garcia et al., 1993) aunque es cierto también que niveles de inclusión de fibra excesivamente bajos (9-26 por 100 FND; Champe y Maurice, 1983) pueden provocar ciertas alteraciones en el tránsito digestivo y en la fermentación cecal con la consiguiente reducción en los índices productivos.

Cuadro 2. Efecto de la inclusión en la dieta de maíz o cebada y heno de alfalfa o pulpa de remolacha como fuente de carbohidratos no estructurales (CNS) o estructurales (CHE), respectivamente así como su administración a dos niveles (alto CNS/bajo CNS) sobre los ritmos de crecimiento y el índice de transformación (IT) en conejos Neozelandeses alimentados «ad libitum».

	Nivel CNS	Tipo de CNS		Tipo de CHE		Significación efecto				
		CEBADA	MAÍZ	HENO DE ALFALFA	PULPA DE REMOLACHA	DE	TCN	TCE	NCH	Interacción
(g/d)	Crecimiento					7,68	T	**	●	NS
	Alto CNS	26,1	26,7	28,2	24,5					
	Bajo CNS	17,3	22,4	23,1	16,6					
	$\bar{\chi}$	[21,6]	[24,5]	[25,6]	[20,4]					
IT (g alimento/g ganancia)	Alto CNS	4,6	4,37	4,27	4,71	1,132	NS	NS	**	NCH-TCE*
	Bajo CNS	5,53	5,06	5,6	4,86					
	$\bar{\chi}$	[5,03]	[4,71]	[4,93]	[4,78]					

DE, desviación estándar; TCN, TCE, NCH, significación estadística de los efectos tipo de CNS, tipo de CHE y nivel de CNS respectivamente; NS, no significativo; T, ($P < 0,1$); *, ($P < 0,05$); **, ($P < 0,01$); ***, ($P < 0,001$).

Fuente: Elaboración propia.

En relación al efecto del tipo de CHE, nuestros resultados difieren de los presentados por García et al (1993) quien sólo encontró diferencias cuando la pulpa de remolacha fue incluida en una proporción superior al 50 por 100 y el efecto depresor sobre los ritmos de crecimiento fueron solo significativos cuando este alimento fue administrado con cebada. Es necesario señalar que los mayores ritmos de crecimiento estuvieron relacionados con un mayor nivel de ingestión de MS, de forma que al analizar el IT sólo se apreciaron valores inferiores en las raciones con un mayor porcentaje de CNS.

2.2. Ingestiones y digestibilidades

En el cuadro 3 se presentan la ingestión de materia seca (MS) g/d, o relativa al peso metabólico ($\text{g/Kg PV}^{0,75}$) de los animales. Se presenta también la digestibilidad de la MS y la ingestión de materia orgánica digestible (MOD).

La ingestión media de materia seca fue de 112 g/d, y las diferencias entre ambos tipos de CNS fueron mínimas, alcanzando únicamente significación estadística cuando se expresaron por Kg de $\text{PV}^{0,75}$. Los niveles de ingestión de los animales que recibieron las raciones con bajos niveles de inclusión de CNS fueron numéricamente superiores a las raciones más concentradas, aunque las diferencias no alcanzaron significación estadística. En este sentido de Blas (1981), observa también un incremento en la ingestión de MS al hacerlo la fibra de la ración. Del mismo modo, Champe y Maurice (1983) aunque en este caso sólo entre la 5ª y 6ª semanas de edad. El mismo efecto fue también descrito por Gidenne (1992) y Bellier y Gidenne (1996), en condiciones similares a las registradas en nuestro experimento y podría considerarse una respuesta del animal a la dilución energética de la ración.

Cuadro 3. Efecto de la inclusión en la ración de maíz o cebada y heno de alfalfa o pulpa de remolacha como fuente de carbohidratos solubles (CNS) o estructurales (CHE) respectivamente así como su administración a dos niveles (alto CNS/bajo CNS) sobre la ingestión y digestibilidad de MS y la ingestión de MOD en conejos Neozelandeses alimentados «ad libitum».

	Nivel CNS	Tipo de CNS		Tipo de CHE		Significación efecto				
		CEBADA	MAÍZ	HENO DE ALFALFA	PULPA DE REMOLACHA	DE	TCN	TCE	NCH	Interacción
Ingestión MS (g/d)	Alto CNS	116,1	107,8	117,3	106	18,99	NS	***	NS	NCH-TCE*
	Bajo CNS	112,3	112,9	127,7	97,5					
	$\bar{\chi}$	[114,1]	[110,4]	[122,5]	[101,6]					
(g/Kg PV ^{0,75})	Alto CNS	67,7	62,1	66,4	63,1	9,36	*	***	NS	NCH-TCE*
	Bajo CNS	68,8	65,5	73,4	60,9					
	$\bar{\chi}$	[68,2]	[63,8]	[69,9]	[62]					
Digestibilidad MS	Alto CNS	71,4	72	70	73,5	5,31	NS	***	***	NCH-TCE***
	Bajo CNS	65,4	65,3	61	69,8					
	$\bar{\chi}$	[68,3]	[68,7]	[65,5]	[71,6]					
MODI (g/d)	Alto CNS	77,5	73,4	76,4	74,3	10,28	NS	T	**	NS
	Bajo CNS	67,7	67,6	70,9	64,3					
	$\bar{\chi}$	[72,4]	[70,5]	[73,7]	[69,1]					

DE, desviación estándar; TCN, TCE, NCH, significación estadística de los efectos tipo de CNS, tipo de CHE y nivel de CNS respectivamente; NS, no significativo; T, (P<0,1); *, (P<0,05); **, (P<0,01); ***, (P<0,001).

Fuente: Elaboración propia.

El consumo de MS fue superior en aquellas raciones formuladas en base a heno que en las formuladas en base a pulpa (P<0,001). Además, tales diferencias fueron más pronunciadas cuando la inclusión de CHE fue elevada (interacción tipo de CHE y nivel P<0,01). Nuestros resultados coinciden con trabajos previos (Fraga y col., 1991; Carabáño y col., 1997) y en general se considera que ciertas dificultades en la evacuación gástrica de la pulpa por sus particulares características físico químicas serían las responsables de tal efecto.

Las raciones con un mayor porcentaje de CNS mostraron mayores niveles de digestibilidad, coincidiendo en general con los resultados previos disponibles en bibliografía (De Blas, 1986; Gidenne, 1991; Bellier y Gidenne, 1995), aunque el tipo de CNS no alteró dichos coeficientes.

Sí se registraron diferencias en relación a la naturaleza de los CHE, así la digestibilidad de la MS de aquellas raciones formuladas en base a pulpa de remolacha fueron superiores a las registradas con heno de alfalfa ($P < 0,001$). Efectivamente la pulpa de remolacha es un sustrato más digestible que el heno de alfalfa reflejando su menor contenido en lignina y en FAD (Van Soest y col., 1991). Por otra parte, la digestibilidad aparente de la propia FND es mucho más alta en la pulpa que en el heno, como indican los resultados descritos en bibliografía: la fracción de FND del heno de alfalfa fue digerida en un rango entre 15-47 por 100 dependiendo del tipo y corte (Gidenne et al., 1991; Pérez, 1994; García y col., 1995a, 1996), mientras que la pulpa alcanzó niveles del 84,5 por 100 (Gidenne, 1987). El incremento en la digestibilidad relacionado con la inclusión de pulpa se refleja con mayor evidencia al incrementar el nivel de inclusión (interacción NCH x tipo de CHE, $P < 0,001$). Nuestros resultados coinciden con aquellos descritos por Fraga et al. (1991) y Carabaño y col. (1997).

La ingestión de MOD incrementó con la proporción dietética de CNS, básicamente por su mayor digestibilidad. Del mismo modo la ingestión de nutrientes digestibles tendió a ser mayor con el heno que con la pulpa. En este sentido la bibliografía consultada es contradictoria, así Carabaño et al. (1997) describen un incremento en la ingestión de MOD con la sustitución de pulpa por heno aunque dicho efecto no alcanzó significación estadística, mientras que Fraga et al. (1991) detectaron el efecto contrario.

2.3. Caracterización de la fermentación fecal

En el cuadro 4 se presenta el efecto de los diferentes tratamientos a estudio sobre el peso y volumen del ciego y la composición química del contenido cecal. El peso del ciego fue de $156,3 \pm 6,93$ g, el del órgano vacío $41,6 \pm 1,05$ g y el del contenido cecal $114,7 \pm 6,34$.

El peso del ciego vacío tiende a mostrar un mayor peso en animales que ingirieron las raciones con un mayor porcentaje de pulpa como fuente de fibra. Coincidiendo con nuestros resultados de Blas (1986) tampoco pudo encontrar diferencias significativas en el peso del ciego vacío relativas a la ingestión de distintos niveles de fibra, sin

embargo en bibliografía los resultados son contradictorios, así mientras que Champe y Maurice (1983) observan que, al incrementar la ingestión de fibra, el peso relativo del ciego descende linealmente, Gidenne et al. (1991) describió contrariamente, un incremento de peso cecal al aumentar la ingestión de fibra.

Cuadro 4. Efecto de la inclusión en la dieta de maíz o cebada y heno de alfalfa o pulpa de remolacha como fuente de carbohidratos no estructurales (CNS) o estructurales (CHE) respectivamente así como su administración a dos niveles (alto CNS/bajo CNS) sobre las características químicas de la fermentación cecal (pH, concentración de amoníaco y AGV, peso completo y vacío, y volumen del ciego) en conejos Neozelandeses alimentados «ad libitum».

	Nivel CNS	Tipo de CNS		Tipo de CHE		Significación efecto				
		CEBADA	MAÍZ	HEÑO DE ALFALFA	PULPA DE REMOLACHA	DE	TCN	TCE	NCH	Interacción
PH	Alto CNS	6,01	6,13	6,14	6	0,246	NS	NS	NS	NS
	Bajo CNS	6,09	5,94	6,08	5,95					
	χ	[6,05]	[6,03]	[6,11]	[5,98]					
Amoníaco (mg/100 ml)	Alto CNS	4,89	5,53	5,05	5,37	2,469	NS	NS	NS	NS
	Bajo CNS	5,19	4,69	6,16	3,71					
	χ	[5,04]	[5,11]	[5,6]	[4,54]					
AGV totales (mmol/l)	Alto CNS	64,6	62,2	62,2	64,5	9,56	NS	NS	NS	NS
	Bajo CNS	64	67,9	67	64,8					
	χ	[64,3]	[65]	[64,6]	[64,7]					
Peso ciego completo (g)	Alto CNS	143,4	139,6	122,4	163,1	38,59	NS	***	•	NS
	Bajo CNS	171,8	168,8	148	192,6					
	χ	[158,6]	[154,2]	[135,2]	[178,8]					
Peso ciego vacío (g)	Alto CNS	42,2	40,3	40,4	42,1	5,94	NS	T	NS	NS
	Bajo CNS	40,7	43,2	38,7	45,1					
	χ	[41,4]	[41,7]	[39,6]	[43,6]					
Volumen ciego (ml)	Alto CNS	126,6	137,8	104,1	160,3	46,67	NS	***	*	NS
	Bajo CNS	156,3	168,3	136,5	188,1					
	χ	[141,4]	[153,1]	[120,3]	[174,2]					

DE, desviación estándar; TCN, TCE, NCH, significación estadística de los efectos tipo de CNS, tipo de CHE y nivel de CNS respectivamente; NS, no significativo; T, ($P < 0,1$); *, ($P < 0,05$); **, ($P < 0,01$); ***, ($P < 0,001$).

Fuente: Elaboración propia.

El peso del ciego completo fue superior ($P < 0,001$) en aquellos animales que recibieron pulpa como fuente de fibra, como ya fue descrito por Fraga et al (1991) y García (1993). El incremento en el tamaño del ciego completo con el nivel de ingestión de fibra coincide también con los resultados de Hoover y Heitmann (1972) y Gidenne (1992).

A partir de nuestro trabajo, y la mayor parte de la literatura existente, se podría concluir que el ciego presenta cierta capacidad física de adaptación al tipo de dieta y que esta respuesta estaría modulada por la naturaleza de la ración (básicamente el tipo de fibra ingerida).

El pH cecal se mantuvo prácticamente constante e independiente del tratamiento experimental aunque sí se apreció una tendencia a ser menor en las raciones formuladas con pulpa. En general, se considera que el pH cecal disminuye con la ingestión de fibra (Bellier y Gidenne, 1996) o con la digestibilidad de la misma (García y col., 1995b; Carabaño et al., 1988). Sin embargo, existen otros trabajos en los que el nivel de fibra tampoco se reflejó en un descenso del pH (Champe y Maurice, 1983) ni tampoco el emplear fuentes de fibra muy digestibles (Gidenne y Jehl, 1996).

La concentración de amoníaco presentó un valor medio de 5,071 mg/100 ml, y aunque se situó en el rango descrito en bibliografía (3,5 hasta 12,2 mg/100 ml; Bellier y Gidenne, 1996; Carabaño et al., 1988; Morisse y col., 1985; Candau y col., 1980), los niveles registrados estarían en su límite inferior.

En cuanto a la concentración cecal de AGV los niveles obtenidos en el presente trabajo se situarían también en el rango descrito en la bibliografía (42 y 65 mM, Champe y Maurice, 1983; Bellier y Gidenne, 1996).

2.4. Composición química de heces y cecotrofos

En el cuadro 5 se presenta la excreción media de cecotrofos (g MS/d) y la composición en PB y FND de los cecotrofos y las heces, atendiendo a los principales factores de variación a estudio. La excre-

ción media fue de $18 \pm 0,81$ g MS/d, producción que fue consistentemente superior a los valores obtenidos previamente en nuestro laboratorio ($10,92 \pm 0,86$ g MS/d, Ganuza, 1998) pero dentro del rango descrito en trabajos en los que se utilizaron dietas similares (15 a 37 g MS/d, Gidenne y Lebas, 1987; Carabaño, 1988; Hörnicke, 1981).

Cuadro 5. Efecto de la inclusión en la dieta de maíz o cebada y heno de alfalfa o pulpa de remolacha como fuente de carbohidratos no estructurales (CNS) o estructurales (CHE), respectivamente así como su administración a dos niveles (alto CNS/bajo CNS) sobre la composición química de las heces duras y cecotrofos en conejos Neozelandeses alimentados «ad libitum».

	Nivel CNS	Tipo de CNS		Tipo de CHE		Significación efecto			
		CEBADA	MAÍZ	HENO DE ALFALFA	PULPA DE REMOLACHA	DE	TCN	TCE	NCH
MS Heces duras (g/d)	Alto CNS	33,5	30,4	35,3	10,76	NS	***	***	NCH-TCE***
	Bajo CNS	39,5	40	50	28,2				
	$\bar{\chi}$	[36,6]	[35,2]	[42,7]	[28,9]				
Cecotrofos	Alto CNS	16	16,8	19,8	6,33	NS	***	*	NS
	Bajo CNS	21,6	17,9	22,1					
	$\bar{\chi}$	[18,7]	[17,3]	[20,9]	[14,8]				
PB Heces duras %	Alto CNS	15,8	17,4	15,9	2,07	NS	**	***NCH-TCN*	
	Bajo CNS	15,2	15	14,8					
	$\bar{\chi}$	[15,5]	[16,2]	[15,3]	[16,4]				
Cecotrofos	Alto CNS	32,1	31	31,9	3,33	NS	NS	NS	NS
	Bajo CNS	31,8	32,1	31,7					
	$\bar{\chi}$	[32]	[31,5]	[31,8]	[31,6]				
FND Heces duras %	Alto CNS	66,6	64,7	66,5	2,51	NS	***	NS	NS
	Bajo CNS	65,4	65,4	67,1					
	$\bar{\chi}$	[66]	[65,1]	[66,8]	[64,2]				
Cecotrofos	Alto CNS	36,9	39,8	38,2	3,69	NS	•	***	NCH-TCN** NCH-TCE**
	Bajo CNS	36,2	35,2	37,2					
	$\bar{\chi}$	[36,6]	[37,5]	[37,7]	[36,4]				

DE, desviación estándar; TCN, TCE, NCH, significación estadística de los efectos tipo de CNS, tipo de CHE y nivel de CNS respectivamente; NS, no significativo; T, ($P < 0,1$); *, ($P < 0,05$); **, ($P < 0,01$); ***, ($P < 0,001$).

Fuente: Elaboración propia.

La concentración media de PB fue claramente superior en los cecotrofos ($31,7 \pm 0,43$) que en las heces ($15,8 \pm 0,26$) mientras que la fibra presentó el efecto contrario, la concentración de FND fue consistentemente superior en las heces ($65,5 \pm 0,32$) que en los cecotrofos ($37,1 \pm 0,47$). Nuestros resultados confirman los valores previos citados en literatura (Carabaño et al, 1988; Carabaño et al, 1989; Fraga et al, 1991; Motta-Ferreira et al, 1996; Carabaño et al, 1997; Hornicke, 1981; Gidenne y Lebas, 1987; Feteke y Bokori, 1985; Ganuza, 1998) y la eficiencia del proceso de retención selectiva de partículas en ciego que permite constituir dos tipos de sustratos bien diferenciados químicamente. La eficiencia de dicho proceso en términos de N reciclado alcanzó valores próximos al 50 por 100.

El contenido en PB de los cecotrofos fue independiente del tratamiento experimental mientras que el de FND disminuyó de forma inversa al contenido del alimento presentando las menores concentraciones cuando los animales recibían aquellas dietas con un alto contenido en CHE. Este descenso fue más marcado en la pulpa y en las dietas formuladas en base a maíz (Interacción nivel de CNS x tipo de CNS y tipo de CHE, $P < 0,01$), mostrando tendencias opuestas a las descritas en literatura donde por lo general se acepta que el contenido en fibra se incrementa con la concentración de la ración (Carabaño et al., 1988; Proto et al., 1968; Hörnicke y Björnhag, 1980; Fraga y col., 1984).

En el cuadro 6 se presenta la composición química de las bacterias del ciego. El contenido medio en N o PB fue de 8,9 y 56 g/100 g MO y el de BP $67,4 \pm 1,13$ $\mu\text{mol/g}$ MO con un coeficiente medio BP/N de 0,755, valores superiores en todos los casos a los cecotrofos (5,6 y 35,2 g N y PB/100 g MO; 33,9 $\mu\text{mol/g}$ MO y coeficiente medio BP/N de 0,593). Con la precaución de que la información relativa a la composición de las bacterias cecales es escasa, el contenido en N fue similar a los valores obtenidos por Ganuza (1998) y estarían en el rango citado en bibliografía para las bacterias ruminales (6,5-9,9 g N/100 g MOD; Perez et al., 1996; Martín-Orúe et al., 1998; Legay-Garmier y Bauchart, 1989; Olubobokun et al., 1988).

Sin embargo, la concentración de BP y la relación de BP/N fue inferior a los obtenidos previamente en nuestro laboratorio (Ganuzá, 1998) (94,6 $\mu\text{mol/g MO}$), en animales con mayores pesos y sometidos a planos de alimentación inferiores (1,5 mantenimiento). Es difícil justificar estas diferencias, aunque variaciones de similar magnitud han sido descritas en bacterias ruminales (Martín-Orúe, 1998). El tratamiento experimental no modificó la composición química de las bacterias, excepto en el caso de la concentración de PB que fue modificada por el tipo de carbohidrato estructural administrado en la ración.

Cuadro 6. Efecto de la inclusión en la ración de maíz o cebada y heno de alfalfa o pulpa de remolacha como fuente de carbohidratos no estructurales (CNS) o estructurales (CHE) respectivamente así como su administración a dos niveles (alto CNS/bajo CNS) sobre la composición de la flora cecal en PB, BP y su relación BP/N en conejos Neozelandeses alimentados «ad libitum».

	Nivel CNS	Tipo de CNS		Tipo de CHE		Significación efecto				
		CEBADA	MAÍZ	HENO DE ALFALFA	PULPA DE REMOLACHA	DE	TCN	TCE	NCH	Interacción
% PB sMO						3,74	NS	**	*	NCH-TCN-TCE**
	Alto CNS	57,7	56,3	58,5	55,6					
	Bajo CNS	54,4	55,4	57,5	52,3					
	χ	[56]	[55,9]	[58]	[53,9]					
BP sMO						6,38	NS	NS	NS	NCH-TCN**
	Alto CNS	71,5	65,1	69,2	67,4					
	Bajo CNS	62,8	70,3	67,6	65,6					
	χ	[67,2]	[67,7]	[68,4]	[66,5]					
BP/N						0,8294	NS	NS	NS	NS
	Alto CNS	0,774	0,725	0,74	0,759					
	Bajo CNS	0,73	0,793	0,736	0,787					
	χ	[0,752]	[0,759]	[0,738]	[0,773]					

DE, desviación estándar; TCN, TCE, NCH, significación estadística de los efectos tipo de CNS, tipo de CHE y nivel de CNS respectivamente; NS, no significativo; T, ($P < 0,1$); *, ($P < 0,05$); **, ($P < 0,01$); ***, ($P < 0,001$).

Fuente: Elaboración propia.

Las BP dietéticas son digeridas masivamente en intestino delgado (75-98 %; Roth y Kirchgessner, 1980) y la fracción indigestible es un sustrato susceptible de ser degradado completamente por la fermentación microbiana, como se ha demostrado en otros compartimen-

tos (Perez et al., 1996), de esta forma las BP en los cecotrofos deben ser mayoritariamente microbianas y por tanto susceptibles de ser utilizadas como marcador microbiano con el fin de calcular la contribución de los microorganismos del ciego al reciclaje de N. La contribución del N bacteriano a los cecotrofos fue superior al 75 %, esta fue independiente del tratamiento experimental.

2.5. Excreción urinaria de derivados púricos

En el cuadro 7 se presenta la excreción urinaria de los derivados metabólicos de las bases púricas ($\mu\text{mol/d}$ y $\text{mmol/PV}^{0,75}$) junto con la relación DP/creatinina ($\mu\text{mol}/\mu\text{mol}$). La excreción de alantoína y ácido úrico representaron la práctica totalidad de DP urinarios, confirmando los resultados previos obtenidos en nuestro departamento (Ganuza, 1998).

La alantoína fue el DP mayoritario y representó el 91 por 100 de la excreción total de purinas, y los niveles de excreción de AU ($110,9 \mu\text{mol/PV}^{0,75}/\text{d}$) fueron similares a los registrados por Ganuza (1998).

La excreción media de DP fue de $2132,2 \pm 110,301 \mu\text{moles/d}$, cantidad que fue claramente superior a los niveles de excreción endógena publicados por Balcells y col.(1998) ($588 \pm 40,2 \mu\text{mol/PV}^{0,75}$) y por tanto una vez superado este umbral las variaciones detectadas deberían ser explicadas teóricamente por la absorción de BP de origen exógeno.

Aquellos animales que ingerieron la ración formulada en base a heno de alfalfa presentaron mayores niveles de excreción de alantoína que aquellos que ingirieron pulpa de remolacha como fuente de fibra, incrementándose dichas diferencias con el nivel de inclusión de CHE (Interacción nivel CNS x tipo de CHE, $p < 0,01$). Es cierto también que el maíz indujo mayores niveles de excreción que la cebada, aunque las diferencias en ningún caso alcanzaron significación estadística.

En el caso del AU, las cantidades excretadas en general fueron independientes del tratamiento experimental. Se observó un mayor ni-

vel de excreción de AU en aquellos animales que recibieron maíz como fuente de CNS y cuando este fue suministrado a bajos niveles (Interacción nivel CNS x tipo de CNS; $p < 0,01$), aunque el significado biológico de dichas diferencias tuvo escasa relevancia en el balance final de excreción. Las excreciones de DP, tanto en valores absolutos o al expresarla por Kg de $PV^{0,75}$ reflejaron aquellas observadas en las de alantoína sin que la diferencia en la excreción de AU modificara dichos resultados.

La excreción media de creatinina fue de $671 \mu\text{mol}/PV^{0,75}/\text{d}$ y en aquellos casos en los que se apreciaron descensos significativos en la excreción de este catabolito la excreción de los diferentes compuestos urinarios fueron corregidos para dicho valor.

La relación DP/creatinina presentó una evolución similar a la excreción de DP en relación al tratamiento experimental, de esta forma aquellos animales que ingirieron heno de alfalfa presentaron mayores coeficientes A/C que aquellos que ingirieron pulpa, incrementándose dichas diferencias con el incremento dietético de cada uno de estos componentes (Interacción nivel CNS x tipo de CNS, $p < 0,01$). Sin embargo, a diferencia de la excreción de DP en valores absolutos o corregidos para el $PV^{0,75}$, el tipo de CNS sí afectó dicha relación de forma que los animales que ingirieron cebada presentaron mayor relación A/C que aquellos que ingirieron maíz ($p < 0,05$).

En los animales cecotrofágicos las purinas absorbidas en el duodeno proceden por una parte de aquellas bases púricas que han sido ingeridas y por otra de un componente microbiano, que atendiendo a los datos publicados en nuestro laboratorio (Balcells y col., 1998) son mayoritarias. Cualquier modificación en la excreción renal de DP puede ser interpretada en función de ambos componentes. En el cuadro 9 se presenta la ingestión de BP, y como se podía esperar la ingestión de BP dietéticas reflejó las diferencias en la concentración de BP del alimento original, siendo superior en aquellos animales que recibieron raciones formuladas con mayor porcentaje de cebada o heno de alfalfa. Sin embargo, aún considerando que la digestibilidad de las bases púricas del alimento es elevada (0,912; Chen et al., 1990) y relativamente

constante, las variaciones en el componente dietético no pudieron explicar las diferencias registradas en la excreción de DP urinarios.

El modelo propuesto por Ganuza (1998) permite estimar, a partir de la excreción urinaria de DP, el flujo duodenal de BP. La diferencia entre el flujo duodenal estimado y la ingestión de BP de origen dietético obtenida a partir del análisis del alimento permite determinar la fracción microbiana procedente de la ingestión de heces blandas o cecotrofos (cuadro 10).

La ingestión de BP microbianas fue modificada por el tratamiento experimental. Aquellos animales que ingirieron las raciones con una elevada proporción de CHE ingirieron mayores cantidades de BP microbianas (1,505 vs 0,667 mmoles/d; $P < 0,01$) y entre ambas fuentes de CHE los niveles de ingestión fueron más altos entre aquellos conejos que ingirieron heno, sin embargo, en las raciones con un elevado porcentaje de CNS el efecto es contrario y la pulpa va a inducir mayores niveles de ingestión de BP microbianas. No se observaron diferencias en la ingestión de BP microbianas relativas al tipo de cereal o CNS utilizado.

El incremento en los niveles de inclusión e ingestión de CHE provocó un incremento significativo en la ingestión de BP de origen microbiano que indican un incremento en los procesos de fermentación cecal, efecto que no se refleja en los parámetros indicativos de la fermentación cecal (pH, NH_3 , AGV). Nuestros resultados confirman aquellos previos obtenidos por Carabaño et al. (1988) y Gidenne y Jehl (1996) en los cuales determinaron una mayor producción de N en cecotrofos al incrementar la ingestión de CHE. Es difícil poder especular sobre la falta de respuesta en los parámetros indicativos de la fermentación cecal. El hecho de que los animales fuesen sacrificados a primera hora de la mañana, antes de la primera comida, podría justificar parte de la insensibilidad de dichos indicadores, sin embargo, en esta especie el estómago puede actuar como un reservorio que tamponaría en cierta medida la alteración circadiana en relación a los tiempos de ingestión con lo cual con independencia del tiempo de muestreo el ciego debería reflejar supuestas modificaciones en los procesos de fermentación.

La pulpa de remolacha presenta una mayor digestibilidad aparente que el heno de alfalfa (Cuadro 9). Efectivamente, con los niveles de inclusión de CHE bajos, la ingestión de BP microbianas como reflejo de una mayor actividad cecal, fue superior en aquellos animales que ingirieron las raciones con una mayor proporción de pulpa. Sin embargo, el efecto contrario se observó para los elevados niveles de inclusión de CHE. Es cierto que los animales alimentados con heno de alfalfa ingirieron mayores cantidades de MS (127,7 vs 97,2 g/d) pero aún así la ingestión de BP microbianas expresada por 100 g MODI siguió siendo superior con aquellos animales que ingirieron heno de alfalfa (3 mmoles/100 g MODI) que aquellos que ingirieron pulpa (1,24 moles/100 g MODI). Este descenso en el consumo de BP microbiana y probablemente en la actividad biosintética en el ciego podría estar relacionada con una fermentación, inducida por este sustrato, menos eficiente. En este sentido Fraga et al. (1991) y Gidenne et al. (1991) demostraron que la pulpa dió lugar a ritmos de tránsito más bajos que el heno. Una estrecha relación entre ritmos de tránsito y eficiencia de síntesis microbiana en los diferentes compartimentos digestivos ha sido demostrada fehacientemente en la bibliografía existente (ARC, 1984).

Cuadro 9. Efecto de la inclusión en la dieta de maíz o cebada y heno de alfalfa o pulpa de remolacha como fuente de carbohidratos no estructurales (CNS) o estructurales (CHE), respectivamente así como su administración a dos niveles (alto CNS/bajo CNS) sobre la excreción renal de DP y la relación DP/creatinina en conejos Neozelandeses alimentados «ad libitum».

	Nivel CNS	Tipo de CNS		Tipo de CHE		Significación efecto				
		CEBADA	MAÍZ	HENO DE ALFALFA	PULPA DE REMOLACHA	DE	TCN	TCE	NCH	Interacción
Alantoina/d ($\mu\text{mol/d}$)	Alto CNS	1774,7	1591,7	1691,6	1673,7	822,41	NS	***	**	NCH-TCE**
	Bajo CNS	1973	2355	2757,3	1570,7					
	χ	[1877,1]	[1985,6]	[2224,4]	[1618,8]					
AU/d ($\mu\text{mol/d}$)	Alto CNS	225,2	178,8	200,1	202,5	74,14	NS	NS	NS	NCH-TCS**
	Bajo CNS	148,8	201,6	185,5	167,2					
	χ	[187]	[190,2]	[193,1]	[184,2]					
DP/d ($\mu\text{mol/d}$)	Alto CNS	1999,9	1774,3	1891,7	1881,8	868,52	NS	**	•	NCH-TCE**
	Bajo CNS	2167,5	2556,6	2986,2	2362,1					
	χ	[2086,4]	[2178]	[2439]	[1805]					
DP/PV ⁰⁷⁵ /d (mmol)	Alto CNS	1,166	1,023	1,076	1,116	0,4863	NS	**	**	NCH-TCE**
	Bajo CNS	1,312	1,479	1,721	1,070					
	χ	[1,241]	[1,258]	[1,398]	[1,091]					
DP/creat	Alto CNS	2,715	1,986	2,322	2,356	0,8717	•	*	*	NCH-TCE**
	Bajo CNS	2,826	2,751	3,302	2,305					
	χ	[2,77]	[2,369]	[2,796]	[2,33]					

DE, desviación estándar; TCN, TCE, NCH, significación estadística de los efectos tipo de CNS, tipo de CHE y nivel de CNS respectivamente; NS, no significativo; T, ($P < 0,1$); *, ($P < 0,05$); **, ($P < 0,01$); ***, ($P < 0,001$).

Fuente: Elaboración propia.

Una menor actividad cecal podría también justificar la diferencia observada, Carabaño et al. (1997) sugiere que una fracción importante de la FND de la pulpa, concretamente las pectinas, pueden ser digeridas antes del intestino grueso basándose en los trabajos de Gidenne (1992) quien obtuvo que un 50 por 100 de las pectinas fueron digeridas en intestino delgado. Merino y Carabaño (1992) utilizando raciones con 30 por 100 de pulpa determinaron que el 70 por 100 de FND

fue digerida previa a su entrada al ciego. Si ello es así, las bacterias resultantes de este proceso, principalmente la flora asociada al material particulado, podría ser excretado en la válvula ileocecal directamente en las heces duras sin contribuir por tanto a la formación y posterior ingestión de cecotrofos. Si la fermentación ileal resultase en un trasvase de N microbiano de cecotrofos a heces duras ello implicaría un incremento en el contenido de N o PB en las heces duras. En el cuadro 7 se comprueba como efectivamente el contenido en N de las heces correspondientes a las raciones con un elevado nivel de inclusión de pulpa fue superior al del heno de alfalfa. Este proceso sería compatible con una elevada digestibilidad de la pulpa y con un bajo nivel de reciclaje de N a través de los cecotrofos.

Cuadro 10. Efecto de la inclusión en la dieta de maíz o cebada y heno de alfalfa o pulpa de remolacha como fuente de carbohidratos no estructurales (CNS) o estructurales (CHE), respectivamente así como su administración a dos niveles (alto CNS/bajo CNS) sobre el flujo duodenal de BP estimado a partir de los DP urinarios, la ingestión de BP dietéticas y microbianas en conejos Neozelandeses alimentados «ad libitum».

mmol/d	Tipo de CNS		Tipo de CHE		Significación efecto					
	Nivel CNS	CEBADA	MAÍZ	HENO DE ALFALFA	PULPA DE REMOLACHA	DE	TCN	TCE	NCH	Interacción
Flujo duodenal BP						1,2403	NS	**	**	NCH-TCE***
	Alto CNS	1,556	1,175	1,329	1,408					
	Bajo CNS	2,063	2,308	3,131	1,256					
	$\bar{\chi}$	[1,810]	[1,780]	[2,230]	[1,327]					
Ingestión BP dieta						256,21	•	***	NS	NCH-TCE***
	Alto CNS	919,6	815,6	986,3	737,5					
	Bajo CNS	896,2	848,4	1160,1	584,6					
	$\bar{\chi}$	[907,5]	[832]	[1073,2]	[658,6]					
Ingestión BP mc						1,146	NS	*	**	NCH-TCE**
	Alto CNS	0,815	0,518	0,532	0,822					
	Bajo CNS	1,362	1,629	2,218	0,792					
	$\bar{\chi}$	[1,089]	[1,111]	[1,375]	[0,806]					

DE, desviación estándar; TCN, TCE, NCH, significación estadística de los efectos tipo de CNS, tipo de CHE y nivel de CNS respectivamente; NS, no significativo; T, (P<0,1); *, (P<0,05); **, (P<0,01); ***, (P<0,001).

Fuente: Elaboración propia

2.6. Excreción de cecotrofos: comparación entre ambos métodos de estudio.

El método utilizado de forma convencional para la colección de cecotrofos como método para calcular la cantidad de N microbiano ingerido es la utilización de collares cervicales. Para ello, es asumido intrínsecamente que la totalidad de los cecotrofos son ingeridos de lo cual no existen evidencias experimentales (Proto et al., 1968).

La excreción media de cecotrofos, $18 \pm 0,81$ g MS/d, coincide en general con los valores obtenidos en trabajos previos: Perez y col. (1997), 21,3 g MS/d; Nicodemus y col. (1997), 21,1 g MS/d; Gidenne y Lebas (1987), 20-25 g MS/d; y Carabaño et al. (1988), 15-30 g MS/d. En todos los trabajos citados anteriormente los periodos de fijación del collar y colección de excreta se situaron entre 12 y 24 h. Sin embargo, menores niveles de excreción fueron determinados cuando el periodo de colección excedió a 24 h, así Fraga et al. (1991) con un periodo de colección de 3 días obtuvo valores de 10 g MS/d que coincidieron además con los obtenidos en nuestro laboratorio (10,8 g MS/d; Ganuza, 1998) con un periodo de colección de 7 días. Parece existir una relación entre periodo de colección y volumen de excreción sin que ello afecte de forma importante a la composición de los mismos. Por otra parte parece ser cierto que la fijación de collares altera el comportamiento digestivo de los animales y ello se evidenció en una disminución significativa de la ingestión voluntaria (15-50 por 100), hecho ya observado anteriormente (Ganuza, 1998; Carabaño et al., 1997) y que se relaciona en general con situaciones de estrés, aunque se ha confirmado también que existen modificaciones digestivas como se desprende del descenso significativo en el ritmo de tránsito de la ingesta derivada de la fijación del collar y que fue independiente de los niveles de ingestión (Fraga et al., 1991).

Por tanto, es difícil concluir si periodos de colección cortos van a conllevar una sobrestimación en los niveles de excreción o si por el contrario los menores valores determinados en periodos largos de colección son debidos a alteraciones digestivas inducidas por el tratamiento experimental. Por tanto a nivel comparativo, y fijando las con-

diciones experimentales, la colección de cecotrofos puede ser un método válido para determinar diferencias en la fermentación cecal. Sin embargo, existe incertidumbre en el momento de cuantificar la contribución en valores absolutos de la proteína microbiana a la ingestión de N o AA y este es un punto fundamental en la formulación comercial de raciones. Asumiendo que los cecotrofos son ingeridos en su totalidad, en el cuadro 11 se presenta el reciclaje de N estimado a partir de la excreción fecal de cecotrofos. El reciclaje de N incrementó con el nivel de inclusión de CHE en la dieta fundamentalmente cuando la fuente utilizada fue el heno de alfalfa.

En relación al nivel de inclusión de fibra, Carabaño et al.(1988) observó también una mayor excreción de N en los cecotrofos con las dietas más fibrosas. No obstante, al comparar el efecto de fuentes de fibra (heno y pulpa) sobre la excreción de cecotrofos y reciclaje de N, Fraga y col. (1991) no pudieron detectar diferencias, aunque sí evidenció efectos importantes de la pulpa sobre el ritmo de paso de la fase sólida. Es necesario citar que en este trabajo se utilizaron periodos de colección de 72 h.

Una mayor ingestión de CHE en aquellas raciones formuladas con un elevado porcentaje de pulpa o heno implicaría una mayor disponibilidad de sustrato fermentable y por tanto mayores niveles de fermentación microbiana. No obstante, es difícil justificar las diferencias y el sentido de las mismas entre heno de alfalfa y pulpa pero los resultados parecen indicar que la pulpa puede ser fermentada con una menor eficiencia o que la flora producida no contribuya al reciclaje de N como fue comentado en el capítulo anterior.

En relación al tipo de CNS las diferencias no alcanzaron significación estadística, coincidiendo en general con trabajos previos (Perez y col., 1997).

Cuadro 11. Efecto de la inclusión en la dieta de maíz o cebada y heno de alfalfa o pulpa de remolacha como fuente de carbohidratos no estructurales (CNS) o estructurales (CHE) respectivamente así como su administración a dos niveles (alto CNS/bajo CNS) sobre el reciclaje de N, calculado a partir de la colección de cecotrofos y la excreción de DP en conejos Neozelandeses alimentados «ad libitum».

mmol/d	Tipo de CNS		Tipo de CHE		DE	Significación efecto				
	Nivel CNS	CEBADA	MAÍZ	HENO DE ALFALFA		PULPA DE REMOLACHA	TCN	TCE	NCH	Interacción
Reciclaje N [DP en orina]	Alto CNS	1,386	0,882	0,998	1,336	2,2563	NS	•	*	NCH-TCE**
	Bajo CNS	2,282	2,999	3,986	1,331					
	\bar{X}	[1,815]	[2,136]	[2,547]	[1,333]					
Reciclaje N [colección cecot.]	Alto CNS	0,830	0,882	1,014	0,653	0,3239	NS	***	*	NS
	Bajo CNS	1,078	0,911	1,106	0,857					
	\bar{X}	[0,954]	[0,898]	[1,062]	[0,767]					

DE, desviación estándar; TCN, TCE, NCH, significación estadística de los efectos tipo de CNS, tipo de CHE y nivel de CNS respectivamente; NS, no significativo; T, (P<0,1); *, (P<0,05); **, (P<0,01); ***, (P<0,001).

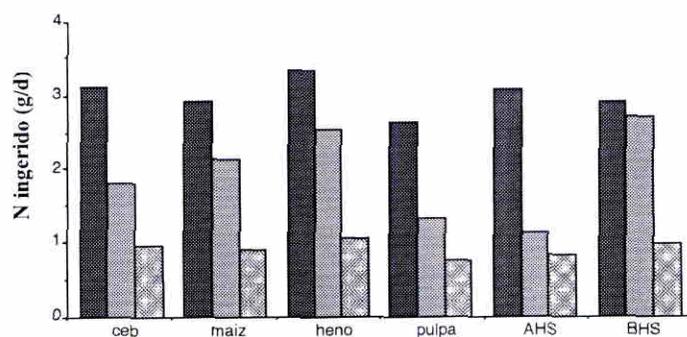
Fuente: Elaboración propia.

En el cuadro 11 se presenta también la estimación del reciclaje de N a partir de la excreción urinaria de DP mediante el modelo propuesto por Ganuza (1998). Conociendo las BP de origen microbiano ingerido y la relación BP/N para cada situación experimental puede estimarse el reciclaje de N, de forma indirecta sin modificar el comportamiento digestivo de los animales. El comportamiento del reciclaje de N, estimado por el método de los DP, refleja sin grandes modificaciones, las variaciones inducidas por el tratamiento experimental sobre el consumo de BP microbianas. De hecho la relación BP/N en los cecotrofos fue independiente del tratamiento experimental. De esta forma el reciclaje de N fue mayor al incrementar el aporte de fibra, y en el caso del heno de alfalfa cuando se consideran las dietas con un elevado nivel de CHE mientras el efecto contrario se aprecia entre fuentes de CHE cuando se consideraron las dietas con un elevado nivel de CNS. En la figura 1 se presenta gráficamente la ingestión de N microbiano (Nmc) en relación al N ingerido cuando la primera es

determinada, a partir de la excreción de cecotrofos o indirectamente a partir de la excreción urinaria de DP.

En general las estimaciones derivadas de la excreción de DP sobrestimaron la ingestión de N en relación a los valores procedentes de la colección de cecotrofos (1,99 y 0,93 g/d) aunque en general las variaciones obtenidas en los niveles de ingestión de Nmc inducidos por el tratamiento experimental se reflejaron de forma similar en los resultados derivados de ambas metodologías. Ninguno de los efectos a estudio pudo explicar con una cierta consistencia estadística las diferencias obtenidas entre ambos métodos.

Figura 1. Valores medios de N reutilizado o reciclado por el mecanismo de la cecotrofia cuando este es estimado a partir de su colección utilizando collares cervicales para evitar dicho proceso □ o a partir de la excreción urinaria de DP ■ . Se presenta también la ingestión de N dietético en g/d ■ de dietas formuladas utilizando cebada o maíz como fuente de CNS y alfalfa o pulpa como fuentes de CHE administrados a dos niveles de inclusión administrados «ad libitum» en conejos en cebo.



Fuente: Elaboración propia

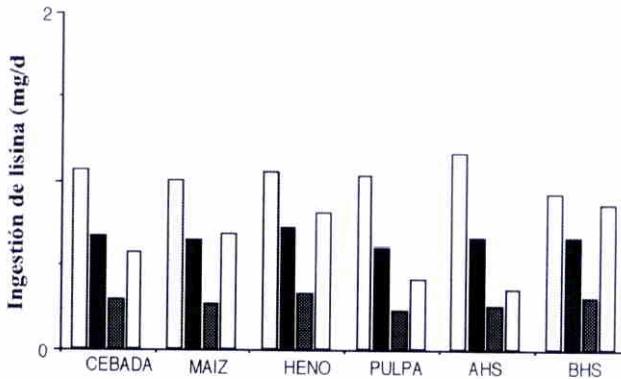
Sin duda, la excreción de DP es un método más fácil de aplicar y no agrede al fisiologismo digestivo del animal por lo que es útil tanto a nivel cuantitativo como comparativo. No obstante, es difícil establecer su validez así como sus posibles deficiencias a partir de una meto-

dología como la colección de cecotrofos sujeta a multitud de factores de variación que dificultan su utilización como método de referencia.

En cualquier caso ambas metodologías confirman en este experimento la importancia del proceso de cecotrofia en la alimentación del conejo y lo más importante es que esta contribución depende de los factores dietéticos a estudio con lo cual es necesario incluir los datos relativos a la producción microbiana en aras a minimizar los precios de la ración.

Por último, se presenta en la figura 2 la contribución de lisina en la ingestión total de aminoácidos (AA) para determinar la significación de este proceso en el metabolismo aminoacídico del animal. La importancia de la cecotrofia se hace evidente cuando la contribución microbiana a la ingestión se refiere a un AA esencial como la lisina cuya concentración es particularmente importante en las bacterias cecales (Ganuza et al., 1999).

Figura 2. Valores medios del consumo de lisina de origen microbiano estimado a partir de la colección total de cecotrofos  o a partir de la excreción de DP  . Se presenta también la ingestión dietética  y las necesidades de lisina para animales de estas características  .



Fuente: Elaboración propia.

3. Resumen y primeras conclusiones

Para estimar el reciclaje de nitrógeno en conejos mediante la colección de cecotrofos y la excreción urinaria de derivados púricos, se emplearon 8 lotes de 8 animales. Las dietas experimentales, formuladas con dos fuentes de carbohidratos no estructurales (cebada o maíz) y estructurales (heno de alfalfa o pulpa de remolacha), administrados a dos niveles de inclusión (alto o bajo), se ofrecieron durante 21 días, procediéndose la última semana a la colección de heces, orina (4 días) y cecotrofos (24 horas) y posteriormente al sacrificio de 4 conejos de cada lote. El tipo de cereal no afectó a los parámetros de crecimiento. El consumo voluntario y el crecimiento fueron superiores con heno que con pulpa (118.6 y 25.6 vs 104.2 y 20.4 g/d), a pesar de la mayor digestibilidad de la pulpa (71.6 vs 65.5). El crecimiento también fue superior con las raciones que presentaban mayor nivel de cereal (26.4 vs 19.8) Las estimaciones del nitrógeno ingerido a partir de los derivados púricos fueron afectadas por la dieta, del mismo modo que las derivadas de la colección de cecotrofos, aunque éstas fueron claramente inferiores (1,988 vs 0,925 g/d).

Palabras clave: conejos, reciclaje de nitrógeno, derivados púricos.

La cecotrofia contribuye significativamente a la ingestión total de nitrógeno en conejos en cebo, siendo dicha contribución dependiente de los factores a estudio. La cuantificación de esta contribución parece estar sobreestimada cuando los derivados púricos son utilizados como índice predictivo, sin embargo no existen evidencias experimentales de que la colección de cecotrofos pueda ser utilizada como índice fiable del reciclaje de nitrógeno.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por Purina España, S.A. El autor A. Belenguer ha disfrutado de una beca de la Institución Fernando el Católico de la Excma. Diputación Povincial de Zaragoza.

Principales fuentes bibliográficas

- AOAC (1990). Official Methods of Analysis, 15th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, V.A.
- ARC (1984). The Nutrient Requirement of Ruminant Livestock. Suppl. 1. Ed.. CAB, Slough, London.
- Balcells, J., Guada, J.A., Peiró, J.M. y Parker, D.S. (1992). Simultaneous determination of allantoin and oxypurines in biological fluids by high-performance liquid chromatography. *J. Chrom.* **575**, 153-157.
- Balcells, J., Ganuza, J.M., Pérez, J.F., Martín-Orúe, S.M. y Gonzalez Ronquillo, M. (1998) Urinary excretion of purine derivatives as an index of microbial-nitrogen intake in growing rabbits. *British Journal of Nutrition* **79**, 373-380.
- Bellier, R. y Gidenne, T. (1996). Consequences of reduced fibre intake on digestion, reate of passage and caecal microbial activity en the young rabbit. *British Journal of Nutrition* **75**, 353-363.
- Bellier, R. y Gidenne, T. (1995). Incidence of the source of fibre in the caecal fermentation pattern of the growing rabbit. *Annales Zootechnie* **44**, Suppl, 187.
- Candau, M., Fioramonti, J. y Touitin, M. (1980). Sites de degradation de l'urée dans le tube digestif du lapin. Second World Rabbit Cong., Barcelona. pp. 81-89.
- Carabaño, R., Fraga, M.J., Santoma, G. y de Blas, J.C. (1988). Effect of diet on composition of cecal contents and on excretion and composition of soft and hard feces of rabbits. *Journal of Animal Science* **66**, 901-910.
- Carabaño, R., Motta-Ferreira, W, de Blas, J.C. y Fraga, M.J. (1997). Substitution of sugarbeet pulp for alfalfa hay in diets for growing rabbits. *Animal Feed Science and Technology* **65**, 249-256.
- Carabaño, R., Fraga, M.J., y de Blas, J.C. (1989). Effect of protein source in fibrous diets on performance and digestive parameters of fattening rabbits. *Journal of Applied Rabbit Research* **12**, 201-204.

- Champe, K.A. y Maurice, D.V. (1983). Response of early weaned rabbits to source and level of dietary fiber. *Journal of Animal Science*, vol. **56**, No. 5, 1105-1114.
- Chaney, A.L. y Marbach, E.P. (1962). Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.* **8**, 131-142.
- Chen, X.B., Hovell, F.D. DeB., Orskov, F.R. y Brown D.S. (1990). Excretion of purine derivatives by ruminants: effect of exogenous supply on purine derivative excretion by sheep. *British Journal of Nutrition* **63**, 131-142.
- de Blas, J.C., Pérez, E., Fraga, M.J., Rodríguez, J.M. y Gálvez J.F. (1981). Effect of diet on feed intake and growth of rabbits from weaning to slaughter at different ages and weights. *Journal of Animal Science*, vol. **52**, No. 6, 1225-1232.
- de Blas, J.C., Santomá, G., Carabaño, R. y Fraga, M.J. (1986). Fiber and starch levels in fattening rabbit diets. *Journal of Animal Science* **63**, 1897-1904.
- Feteke, S. y Bokori, J. (1985). The effect of the fiber and protein level of the ration upon the cecotrophy of rabbit. *Journal of Applied Rabbit Research* **8**, 68-71.
- Fraga, M.J., Barreno, C., Carabaño, R., Méndez, J. y de Blas, J.C. (1984). Efecto de los niveles de fibra y proteína del pienso sobre la velocidad de crecimiento y parámetros digestivos de los conejos. *Anales INIA, Serie Ganadera* **21**, 91-110.
- Fraga M.J., Pérez P., Carabaño R. y de Blas J.C. (1991). Effect of type of fiber on the rate of passage and on the contribution of the soft feces to nutrient intake of finishing rabbits. *Journal of Animal Science* **69**, 1566-1574.
- Ganuza, J.M. (1998). Excreción urinaria de los derivados metabólicos de las bases púricas como índice de la ingestión de proteína microbiana en animales cecotrofágicos. *Tesina de Licenciatura*, Universidad de Zaragoza.

- Ganuza, J.M., Balcells, J., Pérez, J.F., Fondevila, M. y Parker, D.S. (1999). Nutritive value of caecum microorganism and cecotrophes in rabbits. *Proceedings of the British Society of Animal Science* p. 223
- García G., Gálvez J.F. y de Blas J.C. (1993). Effect of substitution of sugarbeet pulp for barley in diets for finishing rabbits on growth performance and on energy and nitrogen efficiency. *Journal of Animal Science* **71**, 1823-1830.
- García, J., Pérez-Alba, L., Alvarez, C., Rocha, R., Ramos, R. y de Blas, C. (1995a). Prediction of the nutritive value of lucerne hay in diets for growing rabbits. *Animal Feed Science and Technology* **54**, 33-44.
- García J., de Blas J.C., Carabaño R. y García, P. (1995b). Effect of type of lucerne hay on caecal fermentation and nitrogen contribution through caecotrophy in rabbits. *Reproduction, Nutrition and Development* **35**, 267-275.
- García J., Carabaño R., Pérez-Alba, L. y de Blas J.C. (1996). Effect of fibre source on neutral detergent fibre digestion and caecal traits in rabbits. En: Lebas, F. (ed.) *Proceedings of the 6th World Rabbit Congress*. Association Française de Cuniculture, Lempdes, pp. 175-180.
- Gidenne T. (1992). Effect of fibre level, particle size and adaptation period on digestibility and rate of passage as measured at the ileum and in the faeces in the adult rabbit. *British Journal of Nutrition* **67**, 133-146.
- Gidenne T. y Lebas F. (1987a). Estimation quantitative de la caecotrophie chez le lapin en croissance: variations en fonction de l'âge. *Annales Zootechnie* **36** (3), 225-336.
- Gidenne T. (1987b). Effet de l'addition d'un concentré riche en fibres dans une ration à base de foin, distribuée à deux niveaux alimentaires chez la lapin adulte. 2. Mesures de digestibilité. *Reproduction, Nutrition and Development* **27**, 801-810.
- Gidenne T. y Jehl N. (1996). Replacement of starch by digestible fibre in the feed for the growing rabbit. 2. Consequences for microbial activity in the caecum and on incidence of digestive disorders. *Animal Feed Science and Technology* **61**, 193-204.

- Gidenne, T., Carré, B., Muriel Segura, Lapanouse, A. y Jöelle Gomez (1991). Fibre digestion and rate of passage in the rabbit: effect of particle size and level of lucerne meal. *Animal Feed Science and Technology* **32**, 215-221.
- Goering H.K. y Van Soest P.J. (1975). Forage fiber analysis. Agricultural Research Service. Agricultural Handbook nº 379 US Department of Agriculture.
- Hoover W.H. y Heitmann R.N. (1972). Effects of dietary fiber levels on weight gain, cecal volume and volatile fatty acid production in rabbits. *J. of Nut.* **102**, 375-380.
- Hörnricke H. (1981). Utilization of caecal digesta by caecotrophy (soft faeces ingestion) in the rabbit. *Livestock Production Science* **8**, 361-366.
- Hörnricke H. y Björnhag G. (1980). Coprophagy and related strategies for digesta utilization. In: *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*. pp 707-730. MTP Press Limited. Lancaster.
- Jouany J.P. (1982). Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents. *Sci. Aliments* **2**, 131-144.
- Legay-Carmier, F. y Bauchart, D. (1989). Distribution of bacteria in the rumen contents of dairy cows given a diet supplemented with soya bean oil. *British Journal of Nutrition* **61**, 725-740.
- Martin Orué, S.M., Balcells J., Guada J.A. y Castrillo C. (1995). Endogenous purine and pyrimidine derivative excretion in pregnant sows. *British Journal of Nutrition* **73**, 375-385.
- Martin Orué S.M (1998). Efecto del nivel de suplementación de proteína degradable sobre la fermentación ruminal y la síntesis microbiana en raciones compuestas mayoritariamente por concentrados administradas a terneros en crecimiento. *Tesis doctoral*, Universidad de Zaragoza.
- Merino, J.M. y Carabaño, R. (1992). Effect of type of fibre on ileal and fecal digestibilities. *Journal of Applied Rabbit Research* **15**, 931-937.

- Minato H. y Suto T. (1981) Technique for fractionation of bacteria in rumen microbial ecosystem: II. Attachment of rumen bacteria to cellulose in vitro and elution of bacteria attached to it. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **27**, 21-31.
- Morisse, J.P., Boilletot, E. y Maurice, R. (1985). Changes induced by feeding in intestinal environment of rabbits (VFA, NH₃, pH, flora). *Rec. Méd. Vét.* **161**, 443.
- Motta-Ferreira W., Fraga M.J. y Carabaño R. (1996). Inclusion of grape pomace, in substitution for alfalfa hay, in diets for growing rabbits. *Animal Sci.* **63**, 167-174.
- Nicodemus N., García J., Carabaño R., Méndez J. y de Blas J.C. (1997). Efecto del tamaño de partícula sobre la digestión en conejos. *ITEA, Volumen extra 18*-Tomo I, 184-186.
- Olubobokun, J.A., Craig, W.M., Nipper, W.A. (1988). Characteristics of protozoal and bacterial fractions from microorganisms associated with ruminal fluid or particles. *Journal of Animal Science* **66**, 2101-2110.
- Perez, J.F., Balcells, J., Guada, J.A. y Castrillo, C. (1996) Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using ¹⁵N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenum. *British Journal of Nutrition* **75**, 699-709.
- Perez, J.M. (1994). Digestibilité et valeur énergétique des luzernes deshydratées pour le lapin: influence de leur composition chimique et de leur technologie de préparation. En: *Vièmes Journées de la Recherche Cunicole, La Rochelle*, Vol. 2, pp. 355-364.
- Perez, J.F., Amber K.H., Blas E., Martín-Orúe S.M. y Balcells J. (1997). Composición de las heces blandas de los conejos. Efecto del tipo y nivel de inclusión de cereal sobre su contenido en N y sobre la relación BP/N. *ITEA, Volumen extra 18*-Tomo I, 193-195.
- Proto V., Gargano D. y Gianani L. (1968). La coprofagia del coniglio sottoposto a differenti diete. *Prod. Animal* **7**, 157-171.

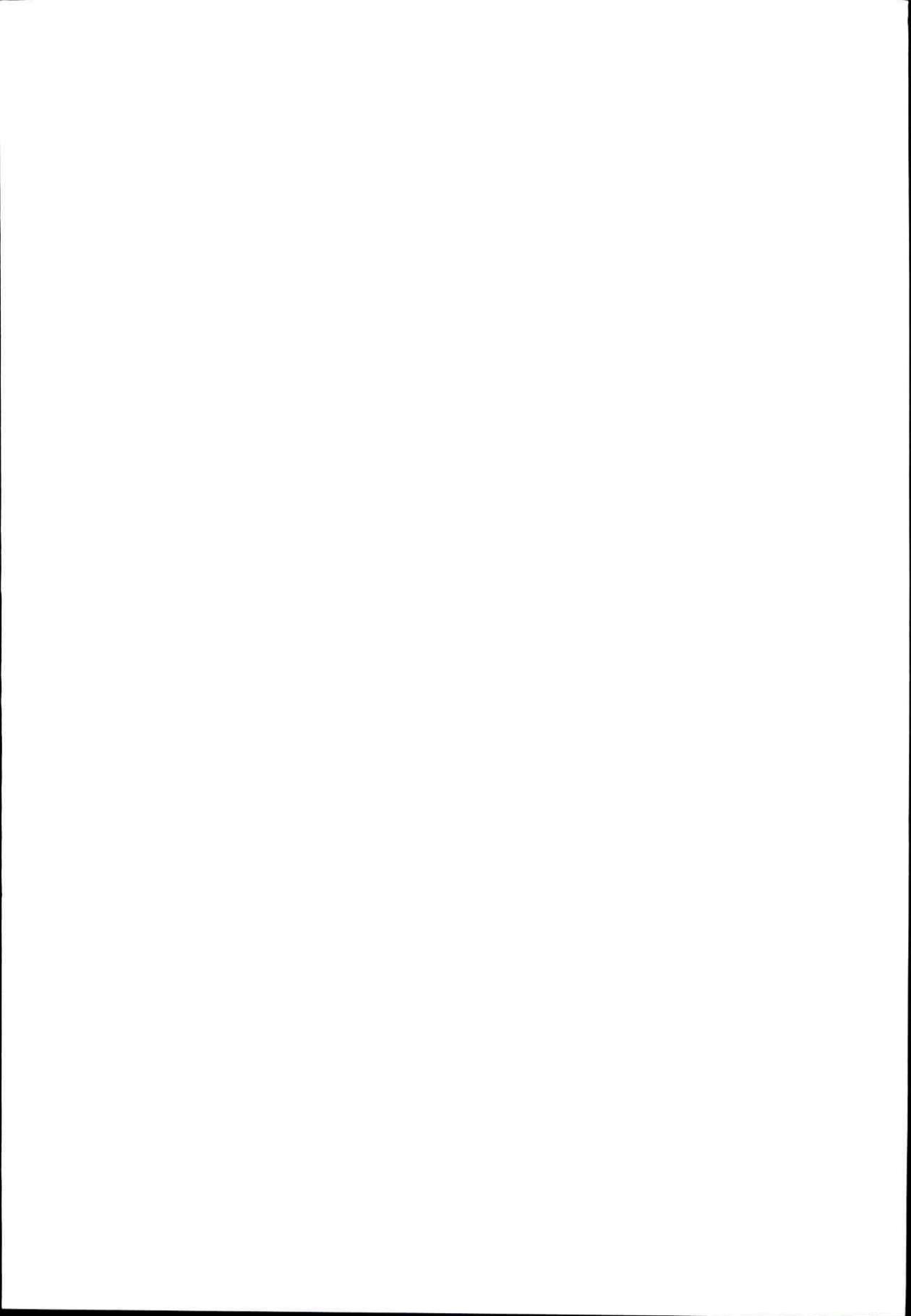
- Roth, F.X. y Kirchgessner, M. (1980). Contribution of dietary nucleic acids to the N metabolism. *Proceedings of the 3rd EAAP Symposium on Protein Metabolism and Nutrition*, Braunschweig, F.R. Germany. Volumen I, pp. 120-134.
- Scales F.M. y Harrison A.D. (1920). Boric acid modification of the kjeldhal method for crop and soil analysis. *J. Ind. Eng. Chem.* **12**, 350-354.
- Van Soest P.J., Robertson J.B. y Lewis R.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* **74**, 3583-3597.

Renal excretion of purine derivatives as an index of microbial nitrogen intake in rabbits

SUMMARY

This study compares estimates of caecotrophes production either from preventing caecotrophy by using neck collar or from urinary purine derivatives (PD) excretion. A total of 64 New Zealand growing male rabbits were allocated to 8 diets, formulated using two sources of non-structural carbohydrates (barley or corn grains, included at two proportions (high or low) and given either with alfalfa hay or sugar beet pulp. Diets were given «ad libitum». Growth rate, dry matter intake and digestibility were not modified by the cereal source, although diets with a high proportion of non structural carbohydrates promoted a higher growth rate (26.4 vs. 19.8; $P < 0.05$). Between fibre sources, alfalfa hay allowed for a higher intake level and growth rate than sugar beet pulp (118.6 and 25.6 vs 104.2 and 20.4 g/d). N recycling values were higher considering data derived from PD excretion than preventing caecotrophy (1.99 vs 1.02 g/d) although caecotrophes production estimated by both methodologies responded similar to the experimental treatments.

Key words: rabbit, nitrogen recycling, purine derivatives.



fima

ganadera 2002



FERIA DE ZARAGOZA

Carretera Nacional II, Km 311
Tel. 976 76 47 00 • Fax 976 33 06 49
P.O. Box 108
E-50080 ZARAGOZA (ESPAÑA)
Internet: <http://www.feriazaragoza.com>
E-mail: info@feriazaragoza.com

FERIA INTERNACIONAL PARA LA PRODUCCIÓN ANIMAL

SALON
INTERNATIONAL DE
L'ELEVAGE

INTERNATIONAL
ANIMAL
PRODUCTION SHOW

INTERNATIONALE
TIERZUCHTAUSSTELLUNG

FIERA
INTERNAZIONALE
DELLA ZOOTECNIA

5

17-20 / 04 / 2002

ZARAGOZA

(España Espagne Spain Spanien Spagna)



Transportes Oficiales / Official Carriers