



Efecto del nivel y tipo de proteína en piensos de gazapos sobre parámetros productivos y salud intestinal

CHAMORRO S.¹, GÓMEZ CONDE M.S.¹, PÉREZ DE ROZAS A.M.², BADIOLA I.², CARABAÑO R.¹, DE BLAS C.¹

(1) Departamento de Producción Animal. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. España.

(2) CreSA (UAB-IRTA). Campus de Bellaterra. Barcelona. España

susana.chamorro@upm.es

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue el de estudiar el efecto de una variación en el nivel y tipo de proteína, para provocar una reducción del flujo ileal, sobre los parámetros digestivos, productivos y mortalidad en gazapos destetados a 25 días. Para cumplir con este objetivo se formularon cuatro piensos que cubriesen o excediesen los requerimientos para gazapos. Dos piensos se diseñaron para mantener la misma fuente de proteína y reducir el nivel de PB del 18.9% al 16.2% (pienso A y B, respectivamente). Otros dos piensos se diseñaron para mantener el mismo nivel de proteína del pienso B pero se varió la fuente principal de proteína (alfalfa) por una fuente de proteína más digestible (concentrado de soja) y una mezcla de fibras (cascari-lla de girasol y pulpa de remolacha y manzana) de manera parcial o totalmente (piensos C y D, respectiva-mente). Se realizó una prueba de cebo para la que se utilizaron 42 animales por pienso, que fueron alimen-tados con los piensos experimentales las dos semanas posteriores al destete. Posteriormente los animales recibieron un pienso comercial hasta los 56 días de edad. La digestibilidad fecal e ileal aparente de las dietas se determinó desde los 32 a 35 días en 10 y 20 animales por pienso, respectivamente. La prueba de morta-lidad se llevó a cabo en animales que recibieron antibiótico en agua (52 por pienso), o no (70 por pienso). La microbiota intestinal (ileon y ciego) se caracterizó mediante técnica de RFLP en animales con antibiótico (18 por pienso) o no (14 por pienso). No se observó efecto del nivel de proteína (A vs BCD) sobre la digesti-bilidad fecal aparente de la materia seca ni energía. Sin embargo, al reducir el nivel de proteína se incremen-tó ($P=0.025$) la digestibilidad fecal aparente de la proteína del 81.3% al 83.5%. La variación en la fuente de proteína (B vs CD) no mostró ningún efecto sobre la digestibilidad fecal aparente de la materia seca (72.2%), energía (72.7%) ni proteína (83.5%). A nivel ileal, no se observó efecto del nivel ni del tipo de proteína sobre la digestibilidad ileal aparente de la materia seca (47.3%) y proteína (61.5%). Al reducir el nivel de proteína se redujo el flujo ileal en un 20% ($P=0.002$). Sin embargo no se consiguió reducir el flujo al variar la fuente de proteína. Durante el periodo en que se alimentó a los animales con los piensos experimentales, de 25 a 39 días de edad, los conejos alimentados con la dieta alta en proteína (dieta A) mostraron una mayor eficacia ali-menticia que los conejos alimentados con dietas bajas en proteína (dietas B, C, D) (0.648 vs. 0.617, $P=0.001$). En el periodo global de cebo (de 25 a 56 días) no se observó efecto ni del tipo ni del nivel de proteína. La mortalidad se redujo de manera paralela a la reducción del flujo ileal de la proteína, tanto en los animales que fueron tratados con antibiótico (1.3 vs 7.7%, $P=0.017$) como en los que no fueron tratados (21.8 vs 32.8%, $P=0.068$). Este efecto parece estar relacionado con variaciones en la presencia de ciertas poblaciones de bac-terias proteolíticas en ileon, que mostraron cambios con la dieta. En animales no tratados la frecuencia de detección de *Clostridium perfringens* en el ileon se incrementó al hacerlo el nivel de proteína ($P=0.005$), sin embargo no se detectaron diferencias significativas en animales tratados con antibiótico. En conclusión, estos resultados sugieren que es posible mejorar la salud intestinal reduciendo el nivel de proteína del 18.9% al 16.2% en piensos de arranque de gazapos sin perjudicar los parámetros productivos del periodo global de cebo, siempre que se mantenga un nivel adecuado de aminoácidos limitantes.

ABSTRACT

The aim of this work was to study the effect of the reduction of ileal flow of crude protein on the digestion efficiency, growth performances and mortality in early weaned rabbits. To deal with these objecti-

ves 4 diets were formulated to meet or exceed essential nutrient requirements for growing rabbits. Two diets were formulated to maintain the source of protein and reducing the level of CP from 18.9% to 16.2% (diet A and B, respectively). Another two diets were designed to maintain the same level of crude protein than the diet B and differing in source of protein by substitution of alfalfa hay for a more digestible protein source (soya concentrate), plus a mixture of fibres sources (sunflower hull, sugar beet and apple pulp), completely (diet D) or partially (diet C). A fattening feeding trial was conducted with 42 animals per diet, that were fed with the experimental diets for two weeks postweaning, thereafter all the animals received a common diet until 56 days of age. Faecal and ileal apparent digestibility were determined from 32 to 35 days of age in 10 and 20 animals per diet, respectively. A mortality trial was carried out in animals receiving antibiotics in drinking water (52 animals per diet) or not (70 per diet). The microbial diversity of intestinal tract (ileum and caecum) was characterized by RFLP in animals receiving (18 per diet) or not (14 per diet) antibiotic supplementation. No effect of the level of protein (A vs. BCD) on the faecal apparent digestibility of dry matter and gross energy was detected. However a reduction on the level of protein was related to an increase of faecal apparent digestibility of crude protein from 81.3% to 83.5% ($P=0.025$). The variation of the source of protein did not affect the faecal apparent digestibility of dry matter (72.2%), gross energy (72.7%), protein (83.5%). In the ileum, no effect of the source neither of the level of protein was detected on the ileal apparent digestibility of dry matter (47.3%) and protein (61.5%). A reduction of the level of protein from 18.9% to 16.2% decreased by 20% the ileal protein flow ($P=0.002$). However no reduction of the ileal protein flow was obtained by changing the source of protein. During the period that the animals were fed the experimental diets, from 25 to 39 days, the high protein diet showed a greater feed efficiency than lower protein diets (0.648 vs. 0.617, $P=0.001$). In the global fattening period (from 25 to 56 days) no effect of the source neither of the level of protein was detected on growth performance. The mortality was reduced in parallel way to the ileal protein flow both in animals supplemented (1.3% vs. 7.7%, $P=0.017$) or not (21.8% vs. 32.8% $P=0.068$). These effects seem to be related with variations in the presence of some proteolytic bacterias at the ileum that showed changes with the diet. The detection frequency of *Clostridium perfringens* in the ileum increased ($P=0.005$) with the dietary protein level in not supplemented animals, but no significant effect was observed in treated animals. In conclusion, these results suggest that it's possible to improve de intestinal health by decreasing the level of crude protein from 18.9% to 16.2% in starter diets without affecting the growth performance in the global fattening period, whenever a correct supply of limiting aminoacids is maintained.

■ INTRODUCCIÓN

En el momento del destete, el aparato digestivo no está desarrollado completamente, y la actividad enzimática es reducida, con lo que el flujo de nutrientes que llega al ciego sin digerir podría incrementarse. En este sentido, trabajos recientes (Gutiérrez et al, 2003) muestran que la utilización de distintas fuentes de proteína en dietas isoproteicas diseñadas para gazapos destetados a 25 días, da lugar a diferencias en el flujo ileal aparente de proteína, resultando que las dietas formuladas con fuentes de proteína menos digestibles, presentaron una mayor mortalidad en el conjunto del periodo de cebo. La causa de este efecto podría ser un cambio en la flora cecal provocado por una entrada en el ciego de proteína no digerida en el intestino delgado. Un aumento en el flujo ileal de proteína ha sido relacionado con una mayor proliferación de especies patógenas del género *Clostridium* (Haffar et al. 1988, Cortez et al. 1992). La reducción del flujo ileal de proteína se puede conseguir mediante una reducción en el aporte, así como mediante un incremento de su digestibilidad.

Por otro lado, tenemos que tener en cuenta que las necesidades de proteína en la fase de post-destete pueden ser más elevadas que en el conjunto del periodo de cebo, y que tanto un insuficiente aporte nitrogenado en la dieta como un desequilibrio en los aminoácidos limitantes puede resultar perjudicial para el crecimiento muscular (Trocino et al, 2000). Del mismo modo, existe una relación importante entre el aporte de aminoácidos y el desarrollo del sistema inmune asociado a la mucosa intestinal. En consecuencia, las dietas de conejos destetados precozmente, se suelen formular con un alto nivel de proteína para cubrir las necesidades de aminoácidos.

Parece pues necesario optimizar las necesidades en proteína y aminoácidos para minimizar tanto los problemas digestivos derivados de un exceso de proteína, así como el perfil adecuado de aminoácidos que permita un crecimiento correcto.

El objetivo del presente trabajo fue el de estudiar el efecto de la reducción del flujo ileal de proteína a través de cambios en el nivel y tipo de proteína, sobre los parámetros digestivos, productivos y mortalidad.

■ MATERIAL Y MÉTODOS

Dietas

Se formularon cuatro dietas isoenergéticas en las que se varió el nivel de proteína (dieta A y dieta B), y el tipo de proteína (dietas B, C, D). En las dos primeras dietas (A y B) se varió el nivel de proteína del 18.9 % al 16.2% manteniendo las mismas fuentes de proteína. Por otro lado, en las dietas B, C y D se mantuvo el mismo nivel de proteína y se varió la digestibilidad de la proteína para lo cual se sustituyó la alfalfa de la dieta B por una mezcla de pulpas (manzana y remolacha), cascarilla de girasol y concentrado de proteína de soja, parcialmente (dieta C) o totalmente (dieta D).

Todas las dietas se formularon para aportar o exceder ligeramente los requerimientos en nutrientes esenciales para gazapos destetados precozmente (De Blas et al., 1999), así como para contener el mismo nivel de aminoácidos limitantes (Lys, Met, Thr) digestibles a nivel ileal de acuerdo con los resultados obtenidos por (García et al., 2005). Los ingredientes, así como la composición química de los distintos piensos se muestran en la tabla I. En todos los piensos se añadió un 0.5% de alfalfa marcada con Yb2 O3 de acuerdo con el procedimiento descrito por García et al. (1999). Los piensos fueron granulados y suministrados ad libitum en todas las pruebas. El agua de bebida se trató con una mezcla de 100 ppm de sulfato de Apramicina activa (Girolan soluble oral de Elanco) y 120 ppm de Tilosina Tartrato (Tailan de Elanco) en el agua de bebida.

Animales y alojamiento

En todos los ensayos se emplearon gazapos de raza Neozelandés x Californiano destetados a 25 días de edad, sin realizar distinción entre sexos. Los animales fueron alojados individualmente en jaulas flat-deck de dimensiones 610x250x330 mm, excepto para los ensayos de digestibilidad fecal donde se utilizaron jaulas de metabolismo (405x510x320 mm) que permitían la separación de heces y orina. Durante el periodo experimental el programa de iluminación fue de 12 horas de luz y 12 de oscuridad, y se mantuvo la temperatura entre los 17° de mínima y los 23° de máxima. Los conejos se manejaron conforme a los principios de bienestar animal publicados en el Real Decreto Español 223/88.

Ensayos de crecimiento

Un total de 168 conejos (42 por pienso) con un peso medio al destete de 494 ± 82 g (media \pm desviación estándar), fueron asignados a los cuatro piensos experimentales utilizando la camada como bloque. Los datos productivos se estudiaron en dos periodos diferentes. Durante el primer periodo, desde el destete del animal hasta los 39 días de edad, los animales fueron alimentados ad libitum con los piensos experimentales, y en el segundo periodo, de 39 hasta los 56 días de edad los animales consumieron un pienso comercial (CUNIUNIC de NANTA, 16% PB y 34.5% FND). Para la prueba de mortalidad se emplearon 70 animales por tratamiento más, a los que no se les suministró antibiótico en el agua de bebida.

Prueba de digestibilidad fecal

40 conejos (10 por pienso) de 25 días de edad con un peso medio al destete de 465 ± 56 g (media \pm desviación estándar), fueron asignados en bloques al azar a los cuatro piensos experimentales utilizando la camada como bloque. Tras un periodo de 7 días de adaptación se controló individualmente el consumo de pienso y la excreción total de heces, sin prevenir la cecotrofia. Las heces recogidas diariamente se almacenaron a -20°C para su posterior análisis. Para determinar la digestibilidad de la materia seca, energía y proteína se secaron las heces en estufa a 80°C durante 48 horas, tras lo cual fueron molidas con una criba de 1 mm.

Tabla I. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales

	Pienso A	Pienso B	Pienso C	Pienso D
MATERIAS PRIMAS, % pienso				
Trigo blando	19.5	30	30	30
Salvado trigo	30	14	14	14
Harina de girasol	13	5	5	5
Alfalfa henificada	34	37.4	18.7	0
Cascarilla girasol	0	0	1.4	2.8
Concentrado proteína de soja	0	0	3.7	7.4
Pulpa manzana	0	0	6.7	13.5
Pulpa remolacha	0	0	5.5	11
Manteca	2	3.0	2.6	2.2
Calcita mineral	0	0	0.5	1
Cloruro sódico	0.5	0.5	0.5	0.5
Corrector ¹	0.5	0.5	0.5	0.5
DL-Metionina	0.04	0.17	0.18	0.18
L-Lisina HCL	0.41	0.57	0.52	0.47
L-Treonina	0.08	0.16	0.18	0.18
Paja tratada sosa	0	8.9	10.2	11.6
TOTAL	100	100	100	100
COMPOSICIÓN QUÍMICA, % MS				
Materia seca	91.1	90.8	90.9	91.2
Cenizas	8.28	8.06	7.57	6.30
Proteína bruta	20.7	17.9	17.4	17.6
Almidón ²	20.0	22.7	22.4	22.05
FND	32.9	33.5	35.5	36.3
FAD	16.5	17.3	18.3	18.5
LAD ²	4.63	4.69	5.14	5.57
EB (kcal/kgMS)	4568	4503	4532	4604
ED (kcal / kgMS)	3339	3274	3277	3370
Lisina	1.11	0.99	1.00	1.07
Metionina	0.47	0.40	0.42	0.46
Treonina	0.76	0.68	0.70	0.75

¹ Proveedor Trouw Nutrition España, S.A. Composición en vitaminas y minerales (mg/kg): Mg, 290; Na, 329; S, 275; Co, 0.7; Cu, 10; Fe, 76; Mn, 20; Zn, 59.2; I, 1.25; Colina, 250; riboflavina, 2; Niacina, 20; vitamina B₆, 1; Vitamina K, 1; Vitamina E, 20 IU/kg; Tiamina, 1; Vitamina A, 8,375 IU/kg, y Vitamina D₃, 750 IU/kg.

² Valores calculados según FEDNA, 2003.

Prueba de digestibilidad ileal

80 conejos (20 por pienso), con un peso medio al destete de 454 ± 77 g, bloqueados por camada, fueron asignados al azar entre los cuatro piensos para determinar la digestibilidad ileal de la materia seca y la proteína. Tras 10 días de adaptación, durante los que consumieron los piensos experimentales que contenían un 0.5% de alfalfa marcada con Yb₂O₃, los animales fueron sacrificados mediante dislocación cervical entre las 19:00 y 20:00 horas para evitar la influencia de la cecotrofia. Se tomó el contenido de los últimos 20 cm de ileon, se congeló y se liofilizó para su posterior análisis. Debido a que la muestra por animal era insuficiente para realizar todos los análisis, se realizaron mezclas de contenidos ileales (8 por tratamiento) de animales que habían consumido el mismo pienso, y que no fueran hermanos entre sí. Las digestibilidades de la materia seca y la proteína se determinaron por la técnica de dilución de marcador. Se analizó el contenido en yterbio tanto de los piensos como de los contenidos ileales para calcular la digestibilidad ileal aparente (de materia seca y proteína) de acuerdo con las siguientes fórmulas:

$$\text{Coef. digestibilidad MS (\%)} = \left(1 - \frac{[\text{Yb}] \text{ pienso}}{[\text{Yb}] \text{ ileon}} \right) \times 100$$

$$\text{Coef. digestibilidad PB(\%)} = \left(1 - \frac{[\text{Yb}] \text{ pienso} \times [\text{PB}] \text{ ileon}}{[\text{Yb}] \text{ ileon} \times [\text{PB}] \text{ pienso}} \right) \times 100$$

Prueba de microbiota intestinal

128 conejos (32 por pienso), con un peso medio al destete de 468 ± 83 g, bloqueados por camada, fueron asignados al azar entre los cuatro tratamientos. Del total de animales, 56 (14 por tratamiento) no recibieron ningún tipo de medicación, mientras que a 72 (18 por tratamiento) recibieron antibiótico en el agua de bebida.

Tras un periodo de 10 días consumiendo los piensos experimentales, los conejos fueron sacrificados mediante dislocación cervical entre las 19:00 y 20:00 horas para evitar la influencia de la cecotrofia. Se tomó muestra de 1 gramo tanto del contenido ileal, como del cecal, se llevaron a 3 ml de etanol y se conservaron a 4°C para su posterior análisis por técnica de RFLP.

Métodos analíticos

Se emplearon los procedimientos de la AOAC (2000) para la determinación de materia seca (942.05), proteína bruta (968.06). La fibra neutro detergente y la fibra ácido detergente fueron determinadas según el método secuencial de Van Soest et al. (1991). La energía bruta se determinó mediante bomba adiabática calorimétrica (PARR 1356). La recuperación de Yterbio se realizó mediante el procedimiento escrito por García et al. (1999). La determinación del contenido de aminoácidos se efectuó mediante cromatografía de intercambio iónico y derivación post-columna con ninidrina, en un auto-analizador de aminoácidos Beckman System 6300 Na-High Performance.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados como un diseño en bloques al azar con la camada como efecto bloque utilizando el procedimiento GLM del SAS (SAS, 1990). Los efectos principales estudiados fueron el nivel y el tipo de proteína. En el ensayo de parámetros productivos se utilizó el peso al destete como covariable. Las medias se compararon por contrastes ortogonales.

■ RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto de la dieta sobre la digestibilidad ileal y fecal aparente se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Efecto del nivel y tipo de proteína sobre la digestibilidad de la materia seca, proteína y energía y el flujo ileal de proteína

	Pienso				SEM ¹	Contrastes ²		
	A	B	C	D		1	2	3
Flujo ileal de proteína, g/día	5.99	4.99	4.90	4.56	0.26	0.002	0.447	0.424
Digestibilidad fecal aparente								
Materia seca, %	72.2	72.2	71.9	72.7	0.61	0.161	0.990	0.437
Proteína, %	81.3	82.8	83.2	84.5	0.7	0.025	0.462	0.206
Energía, %	73.1	72.7	72.3	73.2	0.61	0.375	0.955	0.211
Digestibilidad ileal aparente								
Materia seca, %	47.0	46.6	45.7	49.9	1.57	0.862	0.578	0.128
Proteína, %	60.2	60.9	61.2	63.5	1.98	0.533	0.585	0.498

¹ N= 10 para Digestibilidad fecal, N= 8 para Digestibilidad ileal

² Contrastes 1: A vs BCD, 2: B vs CD, 3: C vs D.

El nivel de proteína no tuvo ningún efecto sobre la digestibilidad fecal de la materia seca y energía, que fueron de media 72.2% y 72.8% respectivamente. Sin embargo si se observó un efecto del nivel de proteína sobre la digestibilidad fecal aparente de la proteína (P=0.025) que se incrementó al disminuir el nivel de proteína del 18.9% al 16.2%. Del mismo modo, se observó un efecto (P=0.002) del nivel de proteína sobre el

flujo ileal de proteína, de tal manera que al reducir un 15% el nivel de proteína, se redujo la cantidad de proteína que llegaba al ileon y entraba en el ciego sin digerir en un 20%. Sin embargo, en contra de lo esperado, no se consiguió reducir de manera significativa el flujo ileal de proteína al sustituir la proteína de la alfalfa por concentrado de proteína. Estos resultados pueden explicarse por la alta calidad de la alfalfa (18.8% PB), que mostró una digestibilidad mayor de lo que se estimó al diseñar del experimento.

El efecto del nivel y tipo de proteína sobre los parámetros productivos, se muestra en la tabla 3. En cuanto al efecto del nivel de proteína, en el periodo en el que se alimentó a los animales con los piensos experimentales, de 25 a 39 días de edad, los conejos alimentados con la dieta alta en proteína (dieta A) mostraron una mayor eficacia alimenticia ($P=0.001$) que los conejos alimentados con dietas bajas en proteína (dietas B, C, D). Pero esta mayor eficacia no se mantuvo a lo largo de todo el periodo de cebo, y en el periodo global (de 25 a 56 días) esa diferencia se diluyó igualándose todos los piensos. En cuanto al tipo de proteína (dietas B,C,D), en el primer periodo no se observaron diferencias en ningún parámetro, mientras que en el periodo global los conejos que durante el primer periodo habían consumido los piensos diseñados para tener una proteína más digestible (C y D), mostraron una tendencia a reducir el consumo ($P=0.082$).

La prueba de mortalidad (Tabla 4) se llevó a cabo en animales tratados con antibiótico en agua (Apramicina y Tilosina) y en animales sin tratar. En ambos casos se observó un efecto del nivel de proteína sobre la mortalidad, que apareció mayoritariamente en el primer periodo. En este periodo, la dieta con alta proteína siempre presentó mayor mortalidad ($P=0.068$ y $P=0.017$ sin antibiótico y con antibiótico respectivamente) que la media de las dietas con baja proteína (B, C, D). En cambio, no se observaron diferencias sobre la mortalidad al sustituir la fuente de proteína de alfalfa por la del concentrado de proteína.

Esta relación entre una reducción del flujo ileal de proteína y la mortalidad, ha sido observada en trabajos anteriores. Recientemente Gutierrez et al., 2003 obtuvo reducciones en la tasa de mortalidad de hasta

Tabla 3. Efecto del nivel y tipo de proteína sobre los parámetros productivos durante el periodo de cebo

	Pienso				SEM ¹	Contrastes ²		
	A	B	C	D		1	2	3
Periodo de 25-39 días								
Ganancia 25-39 (g/día)	50.0	47.4	48.4	48.4	1.16	0.158	0.491	0.973
Consumo 25-39 (g/día)	77.2	76.8	78.9	78.7	1.84	0.663	0.382	0.954
Eficacia 25-39 (g /g)	0.648	0.617	0.618	0.616	0.007	0.001	0.973	0.875
Peso 39 días	1199	1161	1176	1176	16.6	0.154	0.477	0.99
Periodo de 25-56 días								
Ganancia 25-56 (g/día)	49.9	49.3	48.6	47.3	0.77	0.095	0.139	0.226
Consumo 25-56 (g/día)	125	125	123	118	2.09	0.184	0.082	0.067
Eficacia 25-56 (g /g)	0.399	0.396	0.397	0.404	0.003	0.851	0.264	0.103
Peso 56 días	2055	2037	2012	1970	24.3	0.091	0.126	0.221

¹ N= 42 animales

² Contrastes 1: Avs BCD, 2 : B vsCD, 3 : C vs D.

Tabla 4. Efecto de la dieta sobre la mortalidad en animales tratados con antibiótico y sin tratar

	Pienso				SEM ¹	Contrastes ²		
	A	B	C	D		1	2	3
Mortalidad sin antibiótico (%)								
Periodo 25-39 días	32.8	20.9	23.6	20.8	5.16	0.068	0.698	0.698
Periodo 25-56 días	32.8	20.9	25.0	23.6	5.24	0.115	0.484	0.848
Mortalidad con antibiotico (%)								
Periodo 25-39 días	7.69	1.92	1.92	0	2.31	0.017	0.556	0.556
Periodo 25-56 días	9.61	1.92	1.92	3.84	2.81	0.031	0.629	0.629

¹ N= 70 animales sin antibiótico, N=52 con antibiótico

² Contrastes 1:A vs BCD, 2 : B vsCD, 3 : C vs D.

un 60% al reducir el flujo ileal de proteína en un 26%, mediante una variación en fuentes de proteína en dietas isoproteicas (18.7% de PB).

La caracterización de la microbiota se realizó tanto en muestras de ciego como de ileon. En la tabla 5 se muestra el efecto que tuvo la dieta y la utilización de antibióticos sobre la biodiversidad, así como la frecuencia de detección de algunas de las bacterias proteolíticas que podrían estar relacionadas con los incrementos de mortalidad. Los resultados que se muestran son los del ileon porque fue el tramo que se mostró más sensible a variaciones en la dieta y más relacionado con la mortalidad.

Tabla 5. Efecto de la dieta sobre la microbiota intestinal en animales tratados y sin tratar

	Pienso				SEM ¹	Contrastes ²		
	A	B	C	D		1	2	3
ILEON SIN ANTIBIÓTICO								
<i>Biodiversidad</i> ³ ,	1400	1102	1408	427	283	0.914	0.148	0.001
<i>Frecuencia de detección, %</i>								
<i>Campylobacter</i>	100	75.0	61.5	100	10.1	0.078	0.963	0.008
<i>Clostridium</i>	100	100	100	100	-	-	-	-
<i>Clostridium perfringens</i>	77.8	25.0	23.1	33.3	13.8	0.005	0.762	0.628
<i>Clostridium difficile</i>	11.1	16.7	30.8	58.3	11.9	0.174	0.124	0.075
<i>Helicobacter</i>	100	83.3	69.2	91.7	9.0	0.286	0.307	0.072
ILEON CON ANTIBIÓTICO								
<i>Biodiversidad</i> ,	677	395	500	174	131	0.04	0.710	0.107
<i>Frecuencia de detección, %</i>								
<i>Campylobacter</i>	36.8	22.2	17.6	17.6	10.5	0.177	0.815	1.00
<i>Clostridium</i>	84.2	88.9	58.8	35.3	9.90	0.050	0.002	0.109
<i>Clostridium perfringens</i>	10.5	11.1	0.00	0.00	5.60	0.285	0.111	1.000
<i>Clostridium difficile</i>	0.00	5.56	5.88	5.88	4.90	0.220	0.903	1.000
<i>Helicobacter</i>	42.1	27.8	23.5	29.4	11.0	0.291	0.959	0.716

¹ N= 14 animales sin antibiótico, N=18 animales con antibiótico
² Contrastes 1: A vs BCD, 2 : B vsCD, 3 : C vs D.
³ Número de secuencias reconocidas de la base de datos SSU_Unal.gb (Ribosomal Database Project) a partir de las bandas resultantes del estudio por RFLP de las digestas.

Tanto la dieta como la utilización de antibióticos mostraron efectos sobre la microbiota intestinal. La utilización del antibiótico condujo a reducciones tanto en el grado de biodiversidad (nº de especies bacterianas), como en las frecuencias de detección, y provocó variaciones en el equilibrio de las poblaciones. También se observó una interacción entre el efecto de la dieta y la utilización de antibióticos sobre la frecuencia de detección. De esta manera, en los animales que no fueron medicados, los niveles de mortalidad se vieron altamente correlacionados ($r=0.93$) con la frecuencia de detección de *Clostridium perfringens*. El uso de antibiótico resultó efectivo en la reducción de esta bacteria de forma que en este caso la correlación con la mortalidad fue más alta con la frecuencia de detección de otras bacterias como *Helicobacter* y *Campylobacter* ($r=0.85$ y 0.97 respectivamente).

Según estos resultados, se deduce que es posible reducir la mortalidad disminuyendo el nivel de proteína sin comprometer los parámetros productivos del periodo global de cebo, siempre que se mantenga un nivel adecuado de aminoácidos esenciales. Este efecto sobre la mortalidad podría estar relacionado con la presencia de ciertas bacterias proteolíticas, de tal manera que variaciones en el flujo ileal de proteína podrían conducir a variaciones en el equilibrio de microbiota que coloniza el intestino.

■ AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (Proyecto AGL2002-00005 y proyecto INIA OT00-040-C2-2).

■ BIBLIOGRAFÍA

- AOAC. 2000. *Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis*, 17th edition. AOAC, Gaithersburg, MD.
- CORTEZ S., BRANDEBRUGER H., GREUEL E., SUNDRUM A. 1992. Investigations of the relationships between feed and health status on the intestinal flora of rabbits, *Tierärztl. Umsch.* 47 : 544-549.
- DE BLAS C., GUTIÉRREZ I., CARABAÑO R., 1999. Destete precoz en gazapos. Situación actual y perspectivas. *FEDNA* 67-81.
- DE BLAS C., REBOLLAR P.G., MATEOS G.G. 2003. *Normas FEDNA para la formulación de piensos compuestos*.
- GARCÍA A.I., DE BLAS J. C., CARABAÑO R. 2005. Comparison of different units for nitrogen and amino acids evaluation in rabbit diets. *Animal Science*. (en prensa).
- GARCÍA J., CARABAÑO R., DE BLAS J.C. 1999. Effect of fiber source on cell wall digestibility and rate of pasagge in rabbits. *J. Anim. Sci.* 77: 898-905.
- GUTIÉRREZ I., ESPINOSA A., GARCÍA J., CARABAÑO R., DE BLAS C. 2003. Effect of protein source on digestión and growth performance of early-weaned rabbits. *Anim. Res.* 52: 461-471.
- HAFFAR A., LAVAL A., GUILLUO J.P. 1988. Entérotoxémie à *Clostridium Spiriforme* chez des lapins adultes. *Le Point Vétérinaire*. 20: 99-102.
- REAL DECRETO 223/88. 1988. Sobre protección de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. *Boletín Oficial del Estado* 67: 8509-8511.
- SAS. 1990. SAS/STAT, User's guide. SAS Inst. Inc., Cary, N.C.
- TROCINO A., XICCATO G., QUEAQUE P.I., Sartori A. 2000. Feeding plans at different protein levels: Effects on growth performance, meat quality and nitrogen excretion in rabbits. *World Rabbit Science*. 8(Supl I C): 467-474.
- VAN SOEST J.P., ROBERTSON J.B., LEWIS B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition, *J. Dairy Sci.* 74 3583-3597.