

INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACIÓN CON MALATO EN DIETAS RICAS EN GRANO Y CON ALTOS NIVELES DE FIBRA BRUTA SOBRE EL EQUILIBRIO HIDROELECTROLÍTICO EN TERNEROS DE CEBO EN FASE DE CRECIMIENTO.

INFLUENCE OF MALATE SUPPLEMENTATION ON HYDROELECTROLYTIC BALANCE IN GROWING FEEDLOT STEERS FED A HIGH-GRAIN, HIGH-FIBRE DIET
PEREIRA, V.; CASTILLO, C.; HERNÁNDEZ, J.; VÁZQUEZ, P.; LÓPEZ-ALONSO, M.; GÓMEZ, J.J.; BENEDITO, J.L.

Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria de Lugo. Universidad de Santiago de Compostela. Campus Universitario, 27002 Lugo, Spain. Tfno: +34982285900. Ext. 22616. Fax: +34982285940. victorpl@usc.es

ABSTRACT

Since sodium malate seemed to be an alternative to monensin in feedlot calves, a second experiment was carried out to investigate the optimal nutritional conditions for the malate to be even more effective as a growth promotant. In particular, this experiment was designed to address whether malate is effective when high-grain and high-fibre diets are supplemented. This study was carried out with 26 Belgian Blue feedlot steers randomly divided into two different groups: control (without supplementation, C₂, n =10) and malate supplemented (MA₂= 2.8 g/Kg DM; n = 16). The major aim of this study was to understand the influence of malate on the acid-base, water, electrolyte, and energy balance when high grain and high fibre diets are supplemented. In order to achieve this aim different parameters such as: sodium, potassium, chlorine, packed cell volume, blood urea nitrogen (BUN), total proteins, and albumin. The study was conducted in cattle from 14 to 23 weeks of age, i.e. during the growing period in the feedlot system in Galicia. The results indicated that: Changes in protein metabolism parameters that occurred were probably caused by high-grain diet and the dietary changes that occurred from growing to finishing period. Based on these observations malate appeared to be a reliable alternative to monensin from an animal performance point of view and because it did not alter either the water or the electrolyte balance. Most significant differences between them were found on BUN concentrations in several days, with higher levels in malate group. Thus, malate added to high-grain and high-fibre diet did not show any beneficial effect on the water and electrolytic balance.

PALABRAS CLAVE: malato sódico, monensina sódica, equilibrio hidroelectrolítico, terneros de cebo.

INTRODUCCIÓN

Si bien el malato puede constituir una alternativa válida en la sustitución de la monensina (Martin, 1998; Castillo *et al.*, 2004), dada las limitaciones legales vigentes respecto a su utilización como aditivo (Propuesta COM (99)388-final, que sustituirá a la ley 70/5247CEE) aún quedan muchas lagunas en referencia a la metodología nutricional a aplicar con este ácido orgánico y que son interesantes solventar.

Existen muchos estudios *in vitro* que demuestran que el malato estimula el índice de fermentación de diferentes tipos de grano ricos en almidón (Carro y Ranilla, 2003; Tejido *et*

ál., 2005), pero según la bibliografía consultada no existen estudios *in vivo* que analicen influencia de la cantidad y del tipo de fibra aportada sobre el modo de acción del ácido orgánico. La administración de malato bajo las mismas condiciones que monensina y ver su rendimiento es probablemente la primera pregunta a responder; sin embargo hay que tener en cuenta que presentan diferentes mecanismos de acción. Numerosas investigaciones (Martin y Streeter, 1995; Callaway y Martin, 1996) han mostrado que la adición de malato *in vitro* a un medio ruminal con diferentes sustratos generaba cambios en los valores finales de pH, CH₄ y AGV análogos a los registrados para el ionóforo. Sin embargo, al contrario con los antimicrobianos, el ácido orgánico estimulaba, más que inhibía, poblaciones bacterianas ruminales específicas como era *Selenomonas ruminantium*.

Al constituir esta bacteria cerca del 50% de la población bacteriana ruminal de animales alimentados a base de cereales (Caldwell y Bryant, 1966), gran parte de los estudios fueron enfocados desde entonces a analizar los efectos *in vitro* del malato empleando raciones ricas en concentrados como principal sustrato. Sin embargo, estudios recientes han ido demostrando *in vivo* que los efectos son variables en función de los distintos componentes de la dieta y de la dosis de ácido málico empleado (Montaño *et ál.*, 1999; Carro *et ál.*, 2006).

El objetivo principal del presente diseño experimental fue analizar la efectividad del ácido orgánico cuando este fue administrado en raciones con un contenido de fibra bruta superior al proporcionado de forma habitual en dietas destinadas a terneros de engorde (en torno al 5%). Para ello en este caso aportamos un nivel de fibra superior (7.5%) a una dieta de alto contenido en grano. El estudio lo realizamos analizando el equilibrio hidroelectrolítico, de 26 terneros de raza Blanco Azul Belga, divididos en un grupo control, no suplementado, y otro grupo suplementado con malato, durante la fase de crecimiento del programa de cebo industrial. El estudio fue realizado en una granja comercial, bajo las condiciones nutricionales y de manejo características de una explotación de cebo gallega.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y diseño experimental

Para la realización del presente experimento empleamos 26 animales de raza Blanco Azul Belga de edades próximas a los tres meses y pertenecientes a la empresa COREN, S.C.L. (Ourense), que permanecieron estabulados en la granja comercial de la misma empresa sita en Cambeo (Ourense) durante toda la duración del estudio, es decir, de las 14 a las 23 semanas de vida. Los 26 animales se distribuyeron aleatoriamente en los dos grupos de estudio: uno, con 10 animales, a los que no se les administró ningún tipo de suplementación y que fueron considerados como grupo control (C₂), y el segundo con los 16 animales restantes que fueron suplementados con malato sódico a dosis de 2.8 g/Kg MS (MA₂ = 16, Rumalato® Norel & Nature, Barcelona).

Los ingredientes y la composición química de las raciones empleadas se muestran en las tablas 1 y 2, expuestas a continuación. Nótese que la cantidad de FB administrada en este diseño experimental (7.67 %) es superior a la suministrada habitualmente en las dietas de terneros de cebo (en torno al 5 %).

Tablas 1 y 2. Ingredientes y composición química del concentrado-2_c administrado a los animales pertenecientes a los grupos MA₂ y C₂ en la fase de crecimiento.

Ingredientes (% MS)		Composición química (% MS)	
Cebada	14.5	UFC	1.00
Maíz	30.0	Proteína bruta (PB)	16.6
Harina de girasol	4.0	Fibra bruta (FB)	7.67
Melaza	3.0	Fibra neutro-detergente (FND)	21.33
Aceite de palma (98% by pass)	2.0	Fibra ácido-detergente (FAD)	10.84
Harina de soja 44% PB	14.3	Extracto etéreo (EE)	4.90
<i>Gluten feed</i>	10.0	Carbohidratos no estructurales (CNE) ^b	50.87
Raicillas	2.0	Cenizas	6.30
Salvado de trigo	9.0	Almidón	32.25
Cascarilla de soja	8.0		
Corrector vitamínico-mineral ^a	3.2		
Bicarbonato sódico	0.6		

^aCorrector vitamínico-mineral (por cada Kg de MS del corrector): 10.000 UI vitamina A, 2.000 UI vitamina D, 10 UI vitamina E, 0.4 mg Co, 16 mg Cu, 25 mg Fe, 2 mg I, 110 mg Mn, 0.3 mg Se y 120 mg Zn.

^bCNE: a partir del cálculo: $100 - (PB + cenizas + FND + EE)$

Análisis y mediciones

Las muestras de sangre fueron obtenidas por punción en la vena yugular los días 0 (día de inicio de la administración de la dieta de crecimiento), 3, 7, 21, 46 y 57 (último día del período de crecimiento).

Los valores de sodio, potasio, cloro, urea y valor hematocrito, fueron determinados directamente en el establo con el analizador de gases portátil i-STAT EC8+ (Windsor Center Drive, NJ). A continuación, se obtuvieron 40 ml de sangre en tubos Vacutainer® sin anticoagulante para la determinación, tras la obtención del suero en el laboratorio, de los niveles de proteínas totales y albúmina.

Análisis estadístico

Los datos analíticos obtenidos fueron procesados empleando el programa estadístico SPSS 13.0 para Windows, licencia concedida para la Universidad de Santiago de Compostela.

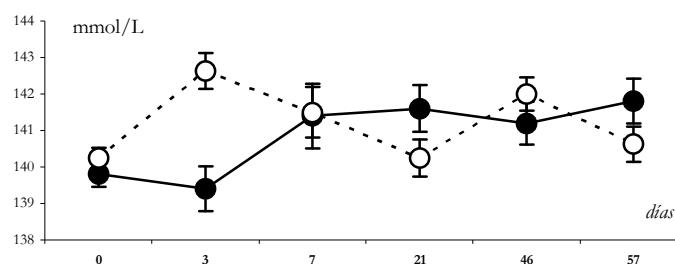
El análisis de los datos obtenidos para cada parámetro considerado se realizó utilizando el Método Lineal General, mediante Análisis de Medidas repetidas, considerando los *grupos* como efecto principal fijo (diseño entre sujetos) y el *día de muestreo* (diseño intra-sujetos) como medidas repetidas. Las diferencias intra-sujetos fueron analizadas considerando el modelo no ortogonal, y aplicando las comparaciones múltiples, estableciendo las posibles diferencias con el Test de Bonferroni.

Para establecer las diferencias intersujetos (C₂ vs MA₂), primero se comprobó la normalidad de las variables con el test de Shapiro-Wilks. Si las muestras seguían una distribución normal utilizábamos la prueba de T-Student, contrastando la homogeneidad de las Varianzas mediante la Prueba de Levene. En caso contrario las diferencias entre las muestras se analizaban con el test H de Mann-Whitney. En todos los casos se estableció la existencia de diferencias estadísticamente significativas cuando la P fue < 0.05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al estudiar la evolución a lo largo de este periodo de cada uno de los grupos del estudio, comprobamos como existieron diferencias significativas en el grupo control en los parámetros sodio, cloro y albúmina; y en el grupo malato para sodio, potasio, proteínas totales, albúmina y urea. La evolución que sufrió la natremia (figura 1) depende del lote que consideremos; así, en el control se observó un aumento durante la primera semana del periodo que después se mantuvo hasta el final del mismo; mientras que en el malato justo tras el cambio de dieta (día 3) existió un incremento significativo de los niveles de sodio que a partir de ese momento tendieron a disminuir.

Figura 1. Valores medios de sodio sanguíneo (\pm ES) en los terneros del grupo control (C_2 , \bullet) y del grupo suplementado con malato (MA_2 , \circ) durante el periodo de crecimiento. El



análisis de la varianza indicó que existieron cambios significativos a lo largo de este periodo en ambos grupos ($P = 0.012$ y $P = 0.001$, C_2 y MA_2 respectivamente). Las comparaciones entre grupos mostraron la existencia de diferencias significativas el día 3 ($P = 0.002$), con valores superiores para el lote malato.

La potasemia del grupo MA_2 presentó un significativo descenso tras el cambio de dieta, alcanzando el valor mínimo en el día 3, con una posterior recuperación parcial en las siguientes tomas de esta fase. En el lote C_2 la cloremia se incrementó en la primera semana y después disminuyó hasta alcanzar el valor mínimo el día 57 (tabla 3).

		0d	3d	7d	21d	46d	57d	NS
K^+ (mmol/l)	C_2	4.52 \pm 0.07	4.44 \pm 0.07	4.58 \pm 0.05	4.48 \pm 0.11	4.34 \pm 0.08	4.40 \pm 0.08	0.364
	MA_2	4.64 \pm 0.05 ^b	4.29 \pm 0.05 ^a	4.41 \pm 0.04 ^a	4.47 \pm 0.09 ^{ab}	4.47 \pm 0.07 ^{ab}	4.37 \pm 0.06 ^{ab}	0.040
	Comparación	0.196	0.098	0.023 ↓	0.972	0.233	0.522	
Cl^- (mmol/l)	C_2	98.00 \pm 0.62 ^{ab}	98.60 \pm 0.60 ^{abc}	101.20 \pm 0.97 ^c	98.60 \pm 0.67 ^{bc}	98.00 \pm 0.76 ^{abc}	96.40 \pm 0.58 ^a	0.004
	MA_2	97.87 \pm 0.49	97.87 \pm 0.48	98.75 \pm 0.77	98.75 \pm 0.53	99.75 \pm 0.60	99.25 \pm 0.46	0.065
	Comparación	0.876	0.367	0.093	0.622	0.097	0.011 ↑	
HTC (%)	C_2	30.80 \pm 0.92	29.20 \pm 1.08	29.20 \pm 0.78	31.20 \pm 1.32	30.60 \pm 1.10	31.60 \pm 1.12	0.226
	MA_2	31.62 \pm 0.73	31.00 \pm 0.86	31.12 \pm 0.62	30.87 \pm 1.04	32.00 \pm 0.87	31.37 \pm 0.89	0.744
	Comparación	0.497	0.220	0.093	0.524	0.435	0.878	

La evolución de los niveles de proteínas plasmáticas, albúmina y BUN, así como el análisis estadístico realizado entre los grupos de estudio están representados en las figuras 5.6 a 5.8. Los niveles de urea en el grupo MA_2 durante todo este periodo los niveles fueron superiores a los del grupo C_2 , siendo estadísticamente significativos en los días 3, 7, 46 y 57.

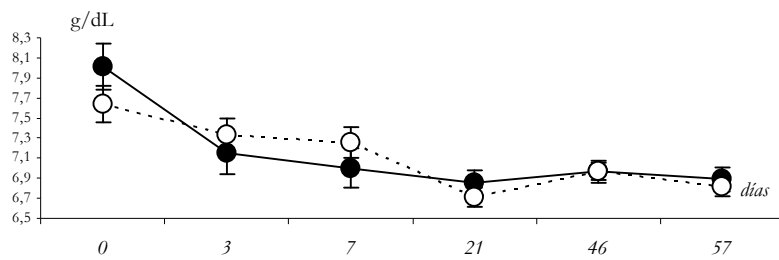


Figura 2. Valores medios de proteínas totales séricas (\pm ES) en los terneros del grupo control (C₂ —●—) y del grupo suplementado con malato (MA₂, —○—) durante el periodo de crecimiento. El análisis de la varianza indicó que solo existieron cambios significativos a lo largo de este periodo en el grupo MA₂ (P = 0.078 y P = 0.019, C₂ y MA₂ respectivamente). Las comparaciones entre grupos mostraron que no existieron diferencias significativas en ninguna de las tomas realizadas durante esta fase.

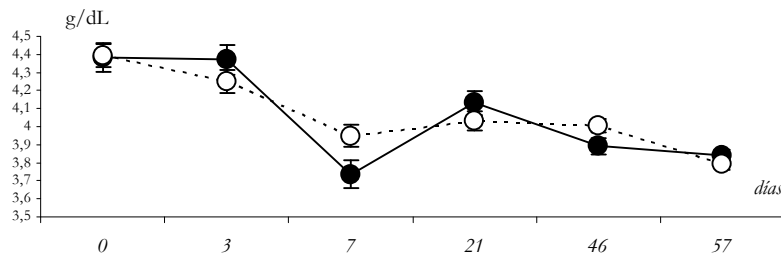


Figura 3. Valores medios de albúmina sérica (\pm ES) en los terneros del grupo control (C₂ —●—) y del grupo suplementado con malato (MA₂, —○—) durante el periodo de crecimiento. El análisis de la varianza indicó que existieron cambios significativos a lo largo de este periodo en ambos grupos (P = 0.000 y P = 0.000, C₂ y MA₂ respectivamente). Las comparaciones entre grupos mostraron que no existieron diferencias significativas en ninguna de las tomas realizadas durante esta fase.

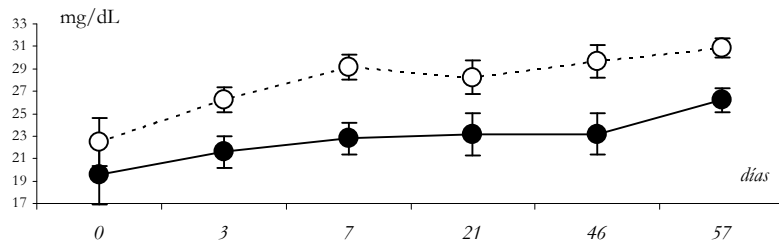


Figura 4. Valores medios de BUN sanguíneo (\pm ES) en los terneros del grupo control (C₂ —●—) y del grupo suplementado con malato (MA₂, —○—) durante el periodo de crecimiento. El análisis de la varianza indicó que solo existieron cambios significativos a lo largo de este periodo en el grupo MA₂ (P = 0.108 y P = 0.005, C₂ y MA₂ respectivamente). Las

comparaciones entre grupos mostraron la existencia de diferencias significativas los días 3 ($P = 0.027$), 7 ($P = 0.005$), 46 ($P = 0.019$) y 57 ($P = 0.006$), con valores siempre superiores para el lote malato.

Las diferencias entre grupos tuvieron lugar en distintos momentos: en el día 3, el grupo MA₂ presentó un mayor valor de natremia y urea; en el día 7, el grupo C₂ tuvo unos niveles superiores de potasio en sangre pero menores de urea; en el día 46, las mayores concentraciones de urea correspondieron al grupo suplementado con malato; y en el día 57, tanto la concentración de urea como los niveles de cloro fueron superiores en el grupo malato.

Los valores medios de todos los parámetros relacionados con el equilibrio hidroelectrolítico se encontraban dentro de los intervalos descritos, para terneros, por los autores consultados en la Revisión Bibliográfica (Kaneko *et ál.*, 1997; Radostits *et ál.*, 2000). La única excepción fue la albúmina sérica que según algunos autores consultados estaba ligeramente incrementada (Knowles *et ál.*, 2000; Radostits *et ál.*, 2000).

Los cambios encontrados en los niveles séricos de electrolitos (Na⁺, K⁺, Cl⁻) siempre se situaron dentro del intervalo de referencia para terneros (Kaneko *et ál.*, 1997; Radostits *et ál.*, 2000), por lo que éstos pueden ser atribuidos a variaciones en la ingesta neta de los electrolitos aportados con la dieta (Stockham y Scott, 2002) y no a fluctuaciones patológicas de los mismos o a variaciones asociadas a la suplementación con promotores del crecimiento.

Los cambios en los niveles de proteínas totales, albúmina y urea pudieron deberse a las características de la dieta, con un contenido en proteína bruta superior a lo recomendado en explotaciones de terneros de cebo (Bailey y Duff, 2005). Este hecho, junto con las adaptaciones metabólicas del animal a este tipo de dieta a lo largo de esta fase, condicionó la evolución de estos parámetros.

Los niveles de urea en el grupo MA₂ fueron claramente superiores a los del lote C₂ (siendo significativa esta diferencia más de la mitad de los días). Revisando la bibliografía consultada solo hemos encontrado la Tesis Doctoral realizada por Flores (2004) que tratase sobre la influencia del malato en los niveles de urea sanguínea, y en su estudio los niveles de urea disminuían tras la administración del malato. Con lo que las diferencias pudieron no ser debidas exclusivamente a la adición de malato, sino que influyesen también los valores especialmente bajos encontrados en el grupo control durante este experimento. Sobre todo teniendo en cuenta el porcentaje elevado de PB que se administró que supuestamente debería incrementar el metabolismo nitrogenado. Una posible explicación sería que la mayor cantidad de FB favoreciese de alguna manera la regulación del metabolismo proteico y de esta forma consiguiese estabilizar los niveles ureicos en unos intervalos menores.

CONCLUSIONES

1. La suplementación con malato sódico no tuvo efectos significativos sobre el equilibrio hidroelectrolítico. En nuestra opinión, las fluctuaciones de los electrolitos fueron debidas a las variaciones en la ingesta neta de los electrolitos aportados con la dieta más que a la acción del suplemento. Tampoco encontramos cambios hídricos asociados al empleo de dietas ricas en grano.

2. Las oscilaciones de los niveles de proteínas totales y albúmina fueron independientes de la suplementación con malato, y para nosotros derivan del elevado aporte proteico de la ración y de la propia homeostasis proteica del animal.
3. Los niveles de urea sanguínea fueron claramente superiores en los animales suplementados con malato sódico, aunque no podemos descartar que el tipo de dieta suministrada pueda influir en estos valores. De nuevo se reafirma la necesidad de realizar investigaciones que puedan aclarar las dudas existentes en el estudio del metabolismo nitrogenado cuando se suplementa con malato sódico en dietas con alto contenido en fibra bruta.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo está subvencionado por la Xunta de Galicia (XUGA 2002/CG320). Los autores agradecemos a Maite Fernández Terán por su experta asistencia técnica. V. Pereira tiene una beca (AP 2002/3241) del Ministerio de Educación y Ciencia Español.

BIBLIOGRAFÍA

- Bailey, C.R.; Duff, G.C. 2005. Protein requirements for finishing beef cattle. *Proceedings. Southwest Nutritional Conferences*: 78-85.
- Caldwell, D.R.; Bryant, M.P. 1966. Medium without rumen fluid for nonselective enumeration and isolation of rumen bacteria. *Applied Microbiology*. 14: 794-801.
- Callaway, T.R.; Martin, S.A. 1996. Effects of organic acid and monensin treatment on *in vitro* mixed ruminal micro-organisms fermentation of cracked corn. *Journal of Animal Science*. 74: 1982-1989.
- Carro, M.D.; Ranilla, M.J. 2003. Effect of the addition of malate on invitro rumen fermentation of cereal grains. *The British Journal of Nutrition*. 189 (2): 181-187.
- Carro, M.D.; Ranilla, M.J.; Giráldez, F.J.; Mantecón, A.R. 2006. Effects of malate on diet digestibility, microbial protein synthesis, plasma metabolites, and performance of growing lambs fed a high-concentrate diet. *Journal of Animal Science*. 84: 405-410.
- Castillo, C.; Benedito, J.L.; Méndez, J.; Pereira, V.; López-Alonso, M.; Miranda, M.; Hernández, J. 2004. Organic acids as a substitute for monensin in diets for beef cattle. *Animal Feed Science and Technology*. 115: 101-116.
- Flores, C. 2004. Improving performance of sheep using fibrolytic enzymes in dairy ewes and malate in fattening lambs. *Tesis Doctoral*. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Kaneko, J.J.; Harvey, J.W.; Bruss, M.L. 1997. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th ed. Ed. Academic Press, Orlando.
- Knowles, T.G.; Edwards, J.E.; Bazeley, K.J.; Brown, S.N.; Butterworth, A.; Warriss, P.D. 2000. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Veterinary Record*. 147: 593-598.
- Martin, S.A., 1998. Manipulation of ruminal fermentation with organic acids: a review. *Journal of Animal Science*. 76: 3123-3132.
- Martin, S.A.; Streeter, M.N. 1995. Effect of malate on *in vitro* mixed ruminal microorganisms fermentation. *Journal of Animal Science*. 73: 2141-2145.
- Montaño, M.F.; Chai, W.; Zinn-Ware, T.E.; Zinn, R.A. 1999. Influence of malic acid supplementation on ruminal pH, lactic acid utilization and digestive function in steers fed high-concentrate finishing diets. *Journal of Animal Science*. 77: 780-784.

Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Blood, D.C.; Hinchcliff, K.W., 2000. *Veterinary Medicine: a Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pig, Goats and Horses*. Ed. WB Saunders Company, London.

Stockham, S.L.; Scott, M.A. 2002. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. Blackwell Publishing Company. Iowa State Press (EE.UU).

Tejido, M.L.; Ranilla, M.J.; García-Martínez, R.; Carro, M.D. 2005. In vitro microbial growth and rumen fermentation of different substrates as affected by the addition of disodium malate. *Animal Science* 81(1): 31-38.