

EFFECTOS DEL ACEITE DE AJO SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL IN VITRO DE DIETAS CON DIFERENTE PROPORCIÓN DE CONCENTRADO

Mateos, I.¹, Ranilla, M.J.^{1,2}, Saro, C.^{1,2} y Carro, M.D.^{1,2}

¹ Departamento de Producción Animal, Universidad de León, 24071 León.España.

² Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Finca Marzanas s/n, 24346 Grulleros, León. (mdcart@unileon.es)

INTRODUCCIÓN

Estudios previos han demostrado que la suplementación con aceite de ajo a cultivos *in vitro* de microorganismos ruminales reduce la producción de metano y la relación acetato:propionato (Busquet *et al.*, 2005a; Calsamiglia *et al.*, 2007; Kongmun *et al.*, 2010), pero los efectos están relacionados con la dosis. Nuestra hipótesis fue que los efectos del aceite de ajo pueden depender de las poblaciones microbianas ruminales en el inóculo, y por tanto de la dieta de los animales donantes y del sustrato incubado. El objetivo de este estudio fue por consiguiente analizar los efectos de diferentes dosis de aceite de ajo en la fermentación *in vitro* de dos dietas en cultivos no renovados de microorganismos ruminales (CNRMR) cuando se utilizó como inóculo líquido ruminal procedente de ovejas alimentadas con las mismas dietas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ocho ovejas merinas canuladas en el rumen fueron utilizadas como donantes de líquido ruminal. Cuatro de las ovejas recibieron una dieta con un 50% de heno de alfalfa y un 50% de concentrado para ovejas lecheras (MC) y las otras cuatro fueron alimentadas con una dieta con un 15% de paja de cebada y un 85% de concentrado para corderos en cebo (AC) durante 10 días antes del comienzo de las incubaciones *in vitro*. Muestras (300 mg) de las dietas MC y AC se incubaron con 30 mL líquido ruminal tamponado en CNRMR. Cada CNRMR fue inoculado con líquido ruminal de las ovejas que ingerían la misma dieta incubada. El aceite de ajo fue añadido a las botellas a dosis de 0, 20, 60, 180 o 540 mg/L de medio de incubación (A20, A60, A180 y A540, respectivamente). La dosis 0 mg/L fue utilizada como control (CON) para analizar los resultados obtenidos. Después de 16 horas de incubación a 39°C, se midió la presión dentro de las botellas con un medidor de presión y se determinó el volumen de gas producido con una jeringa calibrada. A continuación, se recogieron unos 10 mL de gas en un tubo de vacío (Vacutainer®) para analizar su concentración en metano. Posteriormente, se abrieron las botellas, se midió el pH de su contenido y se tomaron muestras para analizar la concentración en ácidos grasos volátiles (AGV), amoníaco y lactato. Las incubaciones fueron repetidas en cuatro días no consecutivos para obtener 4 réplicas por tratamiento. Adicionalmente, en cada una de las incubaciones se tomaron muestras de los inóculos para analizar los parámetros ruminales citados anteriormente.

Los datos fueron analizados como un modelo mixto usando el procedimiento MIXED del SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Cinco concentraciones de aceite de ajo, la dieta y la interacción del aceite de ajo y la dieta fueron incluidas en el modelo como efectos fijos, y el día de incubación (inóculo) fue incluido como efecto aleatorio. Las diferencias entre tratamientos se consideraron significativas a valores de $P < 0,05$ y los valores de P entre 0,05 y 0,10 fueron considerados como una tendencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se detectaron diferencias significativas en los parámetros ruminales de los dos inóculos utilizados para las incubaciones *in vitro*. El inóculo de las ovejas que ingerían la dieta MC presentó mayores ($P < 0,05$) valores de pH, proporción de acetato, relación acetato:propionato, y concentración de amoníaco y total de AGV que el inóculo de las ovejas que recibían la dieta AC. Sin embargo, la proporción de propionato fue mayor ($P < 0,05$) con la dieta AC que con la dieta MC.

Como puede observarse en la Tabla 1, tras la incubación *in vitro* no se observó efecto del aceite de ajo sobre el pH ($P = 0,155$) y las concentraciones de amoníaco ($P = 0,980$)

y lactato ($P=0,396$), ni tampoco se detectaron interacciones aceite de ajo x dieta ($P=0,253$ a $0,849$). Los CNRMR con la dieta MC presentaron valores más elevados ($P>0,001$) de pH y concentración de amoníaco que los cultivos con la dieta AC, pero no se detectaron diferencias en la concentración de lactato ($P=0,106$).

No se observó efecto ($P=0,258$) del aceite de ajo sobre la producción total de AGV, pero sí sobre las proporciones molares de los principales AGV. Las dosis crecientes de aceite de ajo redujeron de forma lineal ($P<0,001$) la proporción de acetato y la relación acetato:propionato, y aumentaron ($P<0,001$) las proporciones de propionato y butirato. Calsamiglia *et al.* (2007) y Busquet *et al.* (2005b; 2006) obtuvieron resultados en la misma línea en fermentadores de doble flujo y CNRMR. En los cuatro parámetros citados anteriormente la interacción aceite de ajo x dieta fue significativa ($P<0,05$) y los efectos fueron más acusados para la dieta MC que para la dieta AC.

La producción de metano disminuyó linealmente ($P<0,001$) al aumentar la dosis de aceite de ajo, pero existió una interacción ($P=0,001$) aceite de ajo x dieta. Busquet *et al.* (2005b) observaron que dosis de 300 mg/L de aceite de ajo disminuían la producción de metano, pero en nuestro estudio se observaron reducciones con dosis más bajas (20 y 60 mg/L para las dietas AC y MC, respectivamente). Estas diferencias pueden deberse a diferencias en la composición del aceite de ajo utilizado en los diferentes experimentos. La recuperación de hidrógeno disminuyó linealmente ($P<0,001$) a medida que aumentó la dosis de aceite de ajo con las dos dietas, lo que concuerda con otros estudios en los que se utilizaron compuestos del ajo (Kamel *et al.*, 2008).

Los resultados de este trabajo indican que los efectos del aceite de ajo sobre la fermentación ruminal *in vitro* dependen de la dosis administrada, del sustrato incubado y de la dieta de los animales donantes de líquido ruminal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, P. W. Cardozo, and C. Kamel. 2005a. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. *J. Dairy Sci.* 88:2508-2516.
- Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, P. W. Cardozo, & C. Kamel. 2005b. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. *J. Dairy Sci.* 88:2508-2516. (Abstr.)
- Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, and C. Kamel. 2006. Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 89:761-771.
- Calsamiglia, S., M. Busquet, P. W. Cardozo, L. Castillejos, and A. Ferret. 2007. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 90:2580-2595.
- Kamel, C., H.M.R. Greathead, M.L. Tejido, M.J. Ranilla, and M.D. Carro. 2008. Effect of allicin and diallyl disulfide on *in vitro* rumen fermentation of a mixed diet. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 145:351-363
- Kongmun, P., M. Wanapat, P. Pakdee, and C. Navanukraw. 2010. Effect of coconut oil and garlic powder on *in vitro* fermentation using gas production technique. *Livestock Science.* 127:38-44.

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado por la C.I.C.Y.T. (AGL2008-04707-C02-02) y la Junta de Castilla y León (Ref. GR158).

GARLIC OIL EFFECTS ON *IN VITRO* RUMINAL FERMENTATION OF DIETS WITH DIFFERENT CONCENTRATE PROPORTION

ABSTRACT: The objective of this study was to determine the effects of four doses (20, 60, 180 and 540 mg/L incubation medium) of garlic oil (GO) on *in vitro* fermentation of two substrates (MC, 50:50 alfalfa hay:concentrate, and AC, 15:85 barley straw:concentrate) in batch cultures of mixed rumen micro-organisms from the rumen of sheep fed the same diets. There were no effects ($P=0.155$ to 0.980) of GO on pH or concentration of ammonia-N and total lactate. Diet x GO interactions ($P=0.050$ to <0.001) were observed for most of the measured parameters. Total volatile fatty acid production was not affected by any dose of GO. Increasing doses of GO reduced linearly ($P<0.001$) methane production and molar proportion of acetate, whereas molar

proportions of propionate and butyrate were increased ($P<0.001$). The results indicate that GO may show different effects depending on the administered dose, substrate composition and microbial populations in the inoculum.

Keywords: garlic oil, methane, ruminal fermentation, diet

Tabla 1. Efectos de cinco dosis de aceite de ajo (0, 20, 60, 180 y 540 mg/L para CON, A20, A60, A180, A540, respectivamente) en pH, amoníaco, lactato, ácidos grasos volátiles (AGV) totales, proporciones molares (PM) de los principales AGV, metano y recuperación de hidrógeno (Rech) en cultivos no renovados de microorganismos ruminales en los que se incubaron dietas (300 mg) con un contenido medio (MC) y alto (AC) de concentrado durante 16 horas ($n = 4$).

Variable y dieta	Tratamiento					DEM ¹	Valor de P		
	CON	A20	A60	A180	A540		A	Dieta	A x Dieta
pH									
MC	6,63	6,66	6,64	6,67	6,65	0,027	0,155	0,001	0,253
AC	6,51	6,52	6,53	6,54	6,53				
Amoníaco (mg/L)									
MC	232	228	231	243	230	8,81	0,861	<0,001	0,849
AC	95,1	99,0	93,3	91,4	90,2				
Lactato (mg/L)									
MC	13,0	9,8	9,9	9,6	10,5	1,78	0,121	0,106	0,573
AC	9,9	10,1	9,0	9,4	7,5				
Total VFA (μmol)									
MC	2069	2068	2083	1993	1929	57,4	0,258	<0,001	0,451
AC	2196	2258	2233	2178	2203				
PM (μmol/100μmol)									
Acetato									
MC	62,9	62,5	60,8*	56,9*	54,7*	0,53	<0,001	<0,001	<0,001
AC	52,5	53,3	52,9	50,8*	47,9*				
Propionato									
MC	21,5	21,8	23,3*	25,6*	26,8*	0,60	<0,001	<0,001	0,057
AC	30,9	30,6	30,9	32,6*	35,0*				
Butirato									
MC	10,6	10,8	11,2*	12,4*	13,8*	0,29	<0,001	<0,001	<0,001
AC	14,0	13,5	13,5	14,0	14,5†				
Acetato:Propionato (μmol/μmol)									
MC	2,93	2,87	2,62	2,23	2,05	0,006	<0,001	<0,001	<0,001
AC	1,70	1,75	1,71	1,57	1,57				
Metano (μmol)									
MC	541	532	472*	316*	197*	22,0	<0,001	<0,001	0,001
AC	467	422*	424*	349*	179*				
Rech (%)									
MC	90,2	89,7	85,5†	75,6*	65,7*	2,61	<0,001	0,018	0,056
AC	92,2	84,4*	87,8	83,8*	71,2*				

*Para cada dieta y variable, las medias difieren de CON ($P<0,05$)

†Para cada dieta y variable, las medias difieren de CON ($P<0,10$)

¹ Desviación estándar de la media