

ESTUDIO DE LA ADICIÓN DE ADITIVOS ORGANOSULFURADOS SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO* DE DIETAS DE DISTINTA DEGRADABILIDAD EMPLEANDO LÍQUIDO RUMINAL DE CAPRINO

Martínez¹, G., Abecia¹, L., Martín-García¹, A.I., Soto¹, E. C., Molina-Alcaide¹, E., García-Pareja³, M. P., Ranilla², M.J. y Yáñez-Ruiz¹, D. R.

¹Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1. 18008 Granada.

²IGM/Universidad de León, Departamento Producción Animal, 24071, León.

³DMC Research Center SL (Grupo DOMCA), Camino Jayena 18620, Alhendín, Granada.

gonzalo.martinez@eez.csic.es

INTRODUCCIÓN

La prohibición del uso de los antibióticos como promotores del crecimiento en la alimentación del ganado en Europa (Regulation, 2003) ha estimulado la búsqueda de compuestos alternativos. Existen numerosos productos con una gran potencial para modificar la fermentación ruminal, entre los que destacan los productos derivados del ajo. El ajo (*Allium sativum*) ha sido utilizado desde la antigüedad por sus efectos beneficiosos para la salud (Rivlin, 2006). Las especies del género *Allium* contienen gran cantidad de compuestos sulfurados con propiedades antimicrobianas (Koch y Lawson, 1996). Recientemente el uso de compuestos derivados del ajo ha despertado un gran interés como aditivos para manipular la fermentación microbiana (Kamel et al., 2008; Ruiz et al., 2010). Sin embargo, los resultados obtenidos hasta ahora son variables y contradictorios, y los trabajos se restringen al ganado vacuno y ovino. Parte de esa variabilidad está relacionada con la naturaleza de la dieta que el animal recibe y, fundamentalmente, con su degradabilidad en el rumen (Hart et al., 2008). Además, el ecosistema microbiano del rumen de caprino presenta ciertas peculiaridades con respecto a los del vacuno y ovino (Kamra, 2005) por lo que cualquier intento de introducir aditivos en la dieta del ganado caprino requiere del estudio de sus efectos específicos en esta especie animal. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la adición de distintas cantidades de aditivos organosulfurados derivados del ajo, sobre la fermentación ruminal *in vitro* de dietas de distinta degradabilidad utilizando como inóculo líquido ruminal de caprino.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon cultivos no renovados de microorganismos ruminales usando el sistema Ankom^{RF} Gas Production (Ankom, NY, EEUU) para incubar durante 24 h dos dietas a base de heno de alfalfa y un concentrado (1:1), que contenía habas y avena (dieta R) o torta de girasol y maíz (dieta L) como fuentes principales de proteína y almidón, respectivamente. Se realizaron tres series de incubaciones y en cada una se incubaron muestras (1g, 1mm) en frascos de vidrio de 310 ml de capacidad, con o sin aditivo, heno de alfalfa como estándar y un blanco. Los aditivos estudiados fueron PTS (propyl propane thiosulfinate), PTSO (propyl propane thiosulfonate), Diallyl disulfuro y Garlicon®, que se adicionaron a cuatro dosis (40, 80, 160 y 320 μ l/l). A cada frasco se le añadió 120 ml de un medio de cultivo compuesto por líquido ruminal filtrado y una disolución tampón (Menke and Steingass 1988) en una relación 1:3. El líquido ruminal se obtuvo de 3 cabras de raza granadina, canuladas en rumen y alimentadas a base de heno de alfalfa y avena. El contenido ruminal de cada animal se extrajo antes de la toma de alimento, se filtró a través de 2 capas de gasa bajo un flujo de CO₂ y se mezcló con la disolución tampón. Los frascos se mantuvieron en un baño a 39° C, se abrieron a las 24 h de incubación y se tomaron alícuotas del contenido de cada botella para analizar su contenido en ácidos grasos volátiles (AGV) mediante cromatografía de gases (Isac et al., 1994). La presión en los frascos se registró automáticamente y los valores se utilizaron para calcular el volumen total de gas producido mediante la fórmula $V=V_i^*P_{psi}^*0.068004084$. El análisis estadístico de los datos experimentales se realizó mediante un modelo univariante GLM del programa SPSS 19.0®. Las diferencias entre medias se establecieron utilizando el test DMS (P < 0.05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La adición de 320 μ l/l y 160 μ l/l de PTS disminuyó (P<0,001) la producción de gas a las 24 h promovida por ambas dietas (Tabla 1). La producción de AGV sólo disminuyó (P=0,039) con la dieta L a la dosis de 320 μ l/l, mientras que la proporción acético:propiónico no se vio afectada (P=0,786). El PTSO disminuyó (P<0,05) la producción de gas con la dieta L a las 24 h y a las dosis de 80, 160 y 320 μ l/l, lo que puede indicar su posible efecto antimicrobiano (Ruiz et al., 2010). La producción de AGV disminuyó (P=0,018) con la dieta L observándose un efecto de la dieta,

aunque no se observó interacción entre la dosis y la dieta ($P=0,112$). En cambio, la proporción acético:propiónico no se vio afectada ($P=0,844$). Ninguna de las dosis de Garlicon modificó la producción de gas a las 24 h, ($P=0,907$), ni la producción de AGV ($P=0,978$). La relación acético:propiónico tampoco se vio afectada ($P=0,978$). Por último, el diallil disulfuro, produjo un descenso ($P=0,043$) de la producción de gas promovida por ambas dietas a las dosis de 80, 160 y 320 $\mu\text{l/l}$, y no se observaron efectos sobre la producción de AGV ($P=0,674$) ni la proporción acético:propiónico ($P=0,700$), lo que contradice otras observaciones (Kamel et al., 2008), lo que se deba posiblemente a las diferentes dosis utilizadas. La interacción dieta-dosis fue significativa ($P<0,016$ y $P<0,021$, respectivamente para el PTS y PTSO) para la producción de gas. A su vez existió efecto del tipo de dieta sobre la producción de gas a las 24 horas en el PTS y PTSO ($P<0,001$), similar a lo descrito por Hart et al. (2008), siendo en la dieta L en la que se observó una mayor disminución. La producción de AGV no se vio afectada ($P>0,05$) por la adición de PTS, PTSO y diallil disulfuro a la dieta R. La adición de PTS y PTSO, por el contrario, disminuyó ($P<0,05$) la producción de AGV con la dieta L.

Estos resultados muestran que determinadas dosis de compuestos organosulfurados tienen el potencial de modificar la fermentación ruminal en caprino y que este potencial depende, en gran medida, de la dieta que el animal ingiera.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

● Hart K. J., Yáñez-Ruiz D. R., Duval S. M., McEwan N. R. & Newbold C. J. 2008. *Animal Feed Sci. and Technology* 147:8-35. ● Isac M. D., García M. A., Aguilera J. F. & Molina Alcaide E. 1994. *Archv. Tieremahr.* 46:37-50. ● Kamel C., Greathead H., Tejido M., Ranilla M. y Carro M. 2008. *Animal Feed Sci. and Technology* 145:351-363. ● Kamra D. N. 2005. *Current Sci.* Vol. 89, Nº 1. ● Koch H. y Lawson L. 1996. Maryland: Williams & Wilkins xv, 329p. ISBN. ● Menke, K. H. & Steingass, H. 1988. *Animal Research and Development*, 7 – 55. ● Regulation C. 2003. *Official Journal of the European Union* L 268. ● Rivlin R. 2006. *J. of Nutrition* 136:713S. ● Ruiz R., García M., Lara A. y Rubio L. 2010. *Veterinary Microbiology* 144:110-117.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto AGL2008AGL2008-04707-C02-01). G. Martínez agradece la concesión de una beca predoctoral del programa FPI 2009 del Ministerio de Ciencia e Innovación. También se agradece la ayuda técnica a J. Fernández, I. Jiménez y T. García.

ADDITION OF ORGANOSULPHUROUS ADDITIVES ON THE RUMEN IN VITRO FERMENTATION OF DIETS WITH DIFFERENT DEGRADABILITY USING RUMEN LIQUOR FROM GOATS

ABSTRACT: Different doses of 4 organosulphurous compounds were incubated *in vitro* for 24 hours in diluted goat's ruminal fluid with two experimental diets consisting of a 50:50 forage:concentrate mix, in which the main source of protein and energy differed in the concentrate: diet R (faba beans and barley) and diet L (corn and sunflower meal). Treatments were: control (no additive) and increasing concentrations (40, 80, 160 y 320 $\mu\text{l/l}$) of four organosulphurous compounds (PTS, PTSO, diallyl disulfide and Garlicon). The system used for gas production measure was the new automated *in vitro* system developed by Ankom[®]. The 24 hours gas production decreased ($P<0,05$) at the doses 160 $\mu\text{l/l}$ and 320 $\mu\text{l/l}$ for PTS, PTSO and the doses 80 $\mu\text{l/l}$, 160 $\mu\text{l/l}$ and 320 $\mu\text{l/l}$ for diallyl disulfide. Diet had an effect ($<0,001$) on gas production with PTS and PTSO after 24 hours incubation, as gas production was decreased in a higher extent with L diet. The VFA production decreased ($P<0,05$) only in PTS and PTSO with the L diet. Our results showed the potential of some organosulphurous compounds to manipulate rumen fermentation in goats and this potential depends on the nature of the diet.

Keywords: additives, goats, organosulphurous, rumen fermentation

Tabla 1. Efecto del PTS, PTSO, Alilil disulfuro y Garlicon sobre la producción de gas a las 24 horas, AGV totales y la proporción acético:propiónico a las 24 horas de incubación.

Aditivo	Dosis (µl/l)	Producción de gas, ml/24 h						AGV totales, mM						Acetato:Propionato											
		Dieta		Significación (P=)		Dieta		Significación (P=)		Dieta		Significación (P=)		Dieta		Significación (P=)		Dieta		Significación (P=)					
		R	L	SEM	Dieta	Dosis	D*D	R	L	SEM	Dieta	Dosis	D*D	R	L	SEM	Dieta	Dosis	D*D	R	L	SEM	Dieta	Dosis	D*D
PTS	0	150,0 ^a	155,2 ^a	2,12	<0,001	<0,001	0,016	31,4	32,4 ^a	0,51	0,511	0,039	0,103	3,52	3,33	0,10	0,997	0,786	0,728						
	40	150,7 ^a	146,5 ^a					31,3	33,0 ^a					3,40	3,56										
	80	152,6 ^a	134,3 ^{ab}					31,2	30,2 ^{ab}					3,34	3,26										
	160	143,8 ^{ab}	121,3 ^b					29,3	30,9 ^a					3,20	3,66										
	320	131,1 ^b	86,6 ^{bc}					30,1	23,4 ^b					3,29	2,95										
PTSO	0	150,0	155,2 ^a	1,77	<0,001	0,335	0,021	31,4	32,4 ^a	0,22	0,018	0,018	0,112	3,52	3,33	0,13	0,625	0,844	0,989						
	40	152,5	139,3 ^b					31,6	29,4 ^b					3,63	3,29										
	80	151,5	142,9 ^b					30,3	29,7 ^b					3,35	3,23										
	160	163,2	129,0 ^c					31,3	28,4 ^b					3,30	3,30										
	320	154,1	126,0 ^c					29,7	28,3 ^b					3,03	3,06										
Alilil disulfuro	0	150,0 ^{ab}	155,2 ^a	2,77	0,075	0,043	0,500	31,4	32,4	0,47	0,807	0,674	0,829	3,52	3,33	0,07	0,193	0,700	0,743						
	40	164,0 ^a	143,5 ^b					31,1	32,2					3,26	3,66										
	80	148,7 ^b	139,4 ^{bc}					31,4	29,6					3,20	3,50										
	160	145,2 ^{bc}	122,2 ^c					30,2	31,1					3,07	3,32										
	320	132,4 ^c	128,3 ^c					30,1	30,1					3,09	3,34										
Garlicon	0	150,0	155,2	2,49	0,144	0,907	0,554	31,4	32,4	0,57	0,352	0,978	0,997	3,52	3,33	0,10	0,503	0,978	0,942						
	40	146,2	145,1					31,5	33,2					3,45	3,64										
	80	155,9	148,0					31,9	32,8					3,48	3,72										
	160	157,7	143,3					31,9	32,3					3,47	3,68										
	320	160,5	141,2					32,3	33,7					3,47	3,67										

R: Dieta degradabilidad rápida, L: Dieta degradabilidad lenta, PTS: propyl propane thiosulfinate, PTSO: propyl propane thiosulfonate, SEM: error estándar de la media, D*D: Interacción dosis x dieta. Medias con superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas en la misma columna ($P<0.05$).