SCREENING IN VITRO DE LOS EFECTOS DE EXTRACTOS DE PLANTAS SOBRE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA RUMINAL A DOS NIVELES DE PH Y ALIMENTADOS CON DIETA ALTA EN CONCENTRADO[1]

P. W. Cardozo[2], S. Calsamiglia[2], A. Ferret[2], and C. Kamel[3]
[2] Dept. Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, España
[3] Pancosma SA, 01200-Bellegarde-sur-Valserine Cedex, France.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de engorde intensivo de terneros utilizan cantidades elevadas de cereales. Sin embargo, dietas rápidamente fermentables incrementan la producción de ácido láctico y reducen el pH ruminal provocando desordenes en la fermentación microbiana (acidosis, meteorismo) y pérdidas económicas (Nocek, 1997). Durante muchos años se han utilizado antibióticos ionóforos para mejorar la producción de carne y prevenir o reducir la incidencia de desordenes digestivos, así como para incrementar la producción de propionato (más eficiente en términos de energía) y reducir la producción del metano (Bergen y Bates, 1984). Sin embargo, el uso de ionóforos en dietas para animales se prohibirá a partir del 2006 en la Unión Europea (Unión Europea, 2003). Por consiguiente, es necesario identificar aditivos que permitan mantener el nivel actual de producción sin aumentar los costes de producción.

El objetivo de este ensayo fue evaluar el efecto de seis extractos de plantas y tres metabolitos secundarios purificados sobre el perfil de fermentación microbiano ruminal con dietas altas en concentrado y a dos niveles de pH (7.0 y 5.5) en un sistema in vitro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron para cada aditivo 30 tubos de polipropileno de 100 mL con tapones de goma y una válvula plástica para la fuga de gases (Tilley y Terry, 1963). El inóculo fue obtenido de dos terneros fistulados en el rumen y alimentados con una dieta rica en concentrado que cumplía las recomendaciones del NRC (1996). La mezcla del líquido ruminal y solución tampón (50 mL; relación 1:1) fue ajustada a pH 7.0 y a 5.5 con 3 *N* HCl. Cada tubo contenía 0.5 g de la dieta (15.4% proteína bruta, 16.0% FND, y 8.2% FAD en base a MS), y contenía: paja (10%), maíz (30%), cebada (25%), soja (19%), tapioca (14%), bicarbonato sódico (0.5%), sal común (0.4%), carbonato cálcico (0.4%), fosfato dicálcico (0.4%), y una mezcla de vitaminas y minerales, formulada para cumplir las necesidades de terneros de 180 kg de peso vivo y una velocidad de crecimiento de 1.2 kg/d. Los tratamientos fueron: control negativo (**CTR**), y extractos de ajo (*Allium sativa*; **GAR**; 0.7% de allicina), canela (*Cinnamonum cassia*; **CIN**; 59% de cinnamaldehido), yuca (*Yucca schidigera*; **YUC**; 8% de sarsaponina), anís (*Pimpinella anisum*; **ANI**; 86% de anetol), orégano (*Origanum vulgare*; **ORE**; 64% de carvacrol y 16% de timol),

[1] Trabajo financiado por Pancosma SA.

capsicum (*Capsicum annuum*; **CAP**; 12% de capsaicina), cinnamaldehido (**CDH**; > 99% de cinnamaldehido), anetol (**ATL**; > 99% de anetol), y eugenol (**EUG**; > 99% de eugenol). Los tratamientos fueron suministrados por Pancosma SA (Pancosma SA, 01200-Bellegarde-sur-Valserine Cedex, France). Cada tratamiento fue probado a 0.3, 3, 30, y 300 mg/L por triplicado y en dos periodos replicados. Todos los tratamientos fueron incubados en un baño maría durante 24 horas y a 39°C.

Se midió el pH final a las 24 horas y se tomaron 2 muestras. La primera muestra se conservó en un frasco que contenía 1 mL de solución desproteinizante (0.2% de cloruro de mercurio, 2% de ácido ortofosfórico y 0.2% de 4-metil valérico como marcador interno) y se analizó para determinar ácidos grasos volátiles (**AGV**) por cromatografía de gases (Jouany, 1982). La segunda muestra de 4 mL se conservó en otro frasco que contenía 4 mL de solución conservadora (HCl concentración 0.2 N), y se analizó para determinar N amoniacal mediante espectofometría (Chaney y Marbarch, 1962). Con el fin de ayudar la interpretación de los resultados los valores del CTR a pH 7.0 fueron estandarizados a 100%, y todos los resultados fueron comparados como variación respecto al CTR. Los datos fueron analizados utilizando el PROC MIXED del SAS (versión 8.2, SAS Institute, Inc., Cary, NC) en un diseño de bloques completamente al azar, cuyo modelo contenía los efectos de las dosis, los dos niveles de pH, y las interacciones entre dosis y pH. El efecto día fue considerado bloque. Las diferencias significativas fueron declaradas a $P < 0.05$ utilizando el test de comparaciones múltiples de Tukey (1953).

RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran únicamente los datos de los extractos y dosis que resultaron en efectos significativos. La concentración media (m*M*) de ácidos graso volátiles (**AGV**) totales y ramificados en el CTR a pH 7.0 fue 189.2 ± 3.38 y 7.3 ± 0.59, respectivamente. La proporción molar de los AGV individuales (mol/100 mol) fueron de 53.4 ± 0.52 para acetato y 31.2 ± 0.87 para propionato. La relación media acetato:propionato (**C_2:C_3**) fue 1.8 ± 0.08, y la concentración media de N amoniacal fue 26.6 ± 0.35 mg/100 mL.

La reducción del pH de 7.0 a 5.5 resultó en una disminución ($P < 0.05$) de las concentraciones de N amoniacal y AGV totales, de la relación C_2:C_3, y en un incremento ($P < 0.05$) de la proporción molar de propionato (Tabla 1). El pH final del líquido ruminal no fue afectado por el incremento de las dosis de los tratamientos (media 6.89 ± 0.27 para pH 7.0, y 5.48 ± 0.34 para pH 5.5). La interacción entre el pH y las dosis de los extractos fue significativa en todos los tratamientos excepto para ATL y CDH en la proporción molar de butirato, ATL y EUG en la relación C_2:C_3, y ORE en la concentración de N amoniacal (datos no mostrados). Las dosis altas de todos los extractos de plantas en ambos pH redujeron negativamente la concentración de AGV totales.

Cuando el pH fue 7.0, ATL, GAR, CAP, CDH y YUC redujeron la concentración de AGV totales, y ANI, ORE, CAP y CDH incrementaron la relación C_2:C_3. El GAR, CAP, CDH, ORE, y YUC redujeron, y EUG, ANI y ATL incrementaron la concentración de N amoniacal. Los efectos de los extractos de plantas sobre el perfil de fermentación no fueron favorables para mejorar la eficiencia de la fermentación microbiana ruminal del ternero de engorde a pH alto. Por el contrario, cuando el pH fue 5.5, la concentración de AGV totales no

se vio afectada por ATL, ANI, y ORE, o se incrementó por efecto de EUG, GAR, CAP, CDH y YUC comparado con el CTR a pH 5.5. El ORE, GAR, CAP, CDH, y YUC redujeron la relación C_2:C_3, lo que podría ser favorable para los sistemas de cebo intensivo en términos de energía. La concentración de N amoniacal se redujo por ATL, ANI, GAR, CAP, CDH y YUC, sugiriendo que inhibieron la desaminación de AA comparados con el CTR a pH 5.5.

En conclusión, los resultados indican que los efectos de los extractos de plantas sobre la fermentación ruminal de dietas para cebo intensivo pueden ser diferentes dependiendo del pH ruminal. Cuando el pH fue 5.5, GAR, CAP, YUC y CDH pueden alterar la fermentación microbiana ruminal a favor a la producción de propionato que es la ruta metabólica más eficiente en términos de energía.

Tabla 1. Efectos de los extractos de plantas a dosis 0.3, 3, y 30 mg/L y a pH 7.0 vs 5.5 sobre los cambios en porcentaje en los perfiles de fermentación ruminal comparados con el control (0 mg/L)[1].

	pH 7.0			pH 5.5		
Ítem	NH_3	AGVtot.	C_2:C_3	NH_3	AGVtot.	C_2:C_3
CTR	100	100	100	70	73	85
ATL*0.3	110	-	-	-	-	-
ATL*3	117	-	-	54	-	-
ATL*30	113	84	-	53	-	-
EUG*0.3	111	-	-	92	90	-
EUG*3	112	-	-	94	89	-
EUG*30	-	-	-	88	88	-
ANI*0.3	122	-	134	55	-	-
ANI*3	144	-	138	50	-	-
ANI*30	144	-	136	60	-	-
ORE*0.3	-	-	167	-	-	-
ORE*3	-	-	171	-	-	-
ORE*30	73	-	-	-	-	54
GAR*0.3	85	-	-	53	-	-
GAR*3	80	85	-	49	87	-
GAR*30	67	81	-	56	93	79
CAP*0.3	89	91	123	52	86	-
CAP*3	82	90	123	43	87	57
CAP*30	76	89	148	44	87	51
CDH*3	78	93	128	53	99	66
CDH*30	40	92	120	48	101	58
YUC*0.3	-	-	-	-	99	-
YUC*3	74	95	-	73	95	45
YUC*30	60	91	-	-	-	45

[1] Sólo se indica el valor medio cuando las diferencias fueron significativas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bergen, W. G., y D. B. Bates. 1984. J. Anim. Sci. 58:1465-1483.
Chaney, A. L., and E. P. Marbach. 1962. Clin. Chem. 8:130-132.
Jouany, J. P. 1982. Sci. Aliment. 2:131-144.
Nocek, J. E. 1997. J. Dairy Sci. 80:1005-1028.
NRC, 1996. Nat. Acad. Press. Washington, DC.
Tilley, J. M. A., y R. A. Terry. 1963. J. Br. Grassl. Soc. 18:104-111.
Tukey, J. W. 1953. Princeton University, Princeton, NJ.
Unión Europea. 2003. Regulación (EC) No 1831/2003, 22 Septiembre.