EFECTOS DEL TRATAMIENTO CON TIOSULFINATO SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y PRODUCCIÓN DE METANO EN CAPRINO

Martínez-Fernández, G., Abecia, L., Ramos-Morales, Martín-García, A.I., Molina-Alcaide, E. y Yáñez-Ruiz, D. R.
Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1. 18008, Granada.
gonzalo.martinez@eez.csic.es

INTRODUCCIÓN

Existen numerosos productos con potencial para modificar la fermentación ruminal, entre los que destacan los productos derivados del ajo. Esta capacidad es debida principalmente a las propiedades antimicrobianas de los compuestos sulfurados presentes en las especies del género *Allium* (Koch y Lawson, 1996). En los últimos años diferentes estudios han demostrado *in vitro* que distintos compuestos activos del ajo reducen la producción de metano (Kongum et al.,2010; Martínez et al., 2011; Soliva et al., 2011; Martinez et al., 2012). Sin embargo, la información derivada de ensayos *in vivo* es escasa y muestra resultados variables y contradictorios (Klevenhusen et al., 2011; Patra et al., 2011) respecto a lo observado *in vitro*. Parte de esa variabilidad está relacionada con las dosis utilizadas en los distintos ensayos y con la degradación de los compuestos activos por los microorganismos del rumen (Hart et al., 2008). Además, recientemente se ha sugerido que las arqueas del rumen, responsables de la síntesis de metano, necesitan un periodo de aproximadamente un mes para adaptarse a los cambios en el ecosistema ruminal (Williams et al., 2009). Este trabajo se planteó con el objetivo de estudiar el efecto de la adición de propil propano tiosulfinato (PTS) durante 30 días sobre la fermentación ruminal y la producción de metano en caprino.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 12 cabras adultas, de raza murciano-granadina, canuladas en rumen, que se distribuyeron en 2 grupos en función de su peso vivo (37,6 ± 5,81 kg). Los animales se alimentaron a nivel mantenimiento energético (Prieto et al., 1990) con una dieta de heno de alfalfa y concentrado en relación 1:1 (Ingredientes concentrado: Harinilla de trigo 35%, cebada 21%, torta de girasol 15%, harinilla de maíz 9%, sorgo 8%, harina de soja 5% y cáscara de soja 4%), durante un periodo de adaptación de 12 días. Durante los siguientes 30 días los animales recibieron la misma dieta, tratándose a 6 de ellos con PTS y a los 6 restantes sin administración del aditivo (control). El PTS (pureza del 9% fijado en alfa-ciclodextrina) se administró en cantidad creciente durante 5 días, para facilitar la adaptación de los animales al aditivo, hasta alcanzar la dosis experimental (0,2 g/kg peso vivo), que se repartió en 2 tomas diarias. En cada toma el PTS se pesaba en papel de celulosa junto con un 1 g de cebada molida a 1 mm y se introducía en el rumen a través de la cánula. A los animales del grupo control también se les introdujo, a través de la cánula, 1 g de cebada molida a 1 mm en papel de celulosa en los mismos momentos y de la misma manera que con el PTS. Los animales se alimentaron dos veces al día y la ingestión de alimento se controló diaria e individualmente. Los días 7, 14, 21 y 28 del experimento se pesaron a los animales y se tomaron alícuotas del contenido ruminal a las 4 horas tras haber recibido el alimento para analizar su contenido en ácidos grasos volátiles (AGV), mediante cromatografía de gases (Isac et al., 2004). A continuación, tras cada uno de los muestreos anteriores, los animales se introdujeron en cámaras individuales (Abecia et al. 2012) para medir la producción de metano durante 2 días consecutivos, usándose para ello un analizador de gases ADM MGA3000 (Spurling Works, Herts, Reino Unido). El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un análisis de varianza con medidas repetidas, considerando a cada animal como unidad experimental, usando el programa SPSS 19.0®. Las diferencias entre medias se establecieron utilizando el test DMS ($P < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento con PTS no afectó ($P \geq 0,422$) a la ingestión de alimento ni al peso vivo de los animales (Tabla 1), en ninguno de los días ($P \geq 0,167$) de muestreo. Patra y Saxena (2010) observaron que la adición de aceite de ajo a búfalos y ovejas disminuyó la ingesta del concentrado durante los primeros 15 días del experimento, mientras que otros autores (Yang et al., 2007; Chaves et al., 2008) no observaron efectos significativos sobre la ingesta

de alimento ni en corderos ni en vacas lecheras tratados con aceite de ajo. Esta variabilidad en los resultados puede deberse a las distintas dosis utilizadas, composición de la dieta, modo de administración de los compuestos, así como a diferencias químicas en los compuestos usados. En este trabajo el compuesto se ha administrado de forma progresiva y en cantidades crecientes durante los 5 días iniciales del experimento lo que asegura una adecuada adaptación de los animales a la ingesta del compuesto activo. Respecto a la concentración de AGV totales y la proporción acético:propiónico (Tabla 1) no se observaron diferencias del tratamiento ($P \geq 0,433$) ni efecto del tiempo ($P \geq 0,520$). Estos resultados sugieren que la fermentación ruminal no se vio afectada por el tratamiento con PTS. En el mismo sentido, no se observaron efectos significativos debidos al tratamiento ($P = 0,211$) ni al tiempo ($P = 0,854$) sobre la producción de metano (L/kg materia seca ingerida) (Tabla 1), aunque sí una reducción numérica a partir del día 7 de tratamiento que se mantuvo para el resto de mediciones. La falta de efecto significativo no concuerda con obtenido en trabajos anteriores realizados *in vitro* (Martínez et al., 2011; Martínez et al., 2012) en los que la adición de PTS disminuyó la producción de metano. Diferencias similares entre estudios *in vitro* e *in vivo* fueron observadas por Klevenhunsen et al. (2011) en ovejas tratadas con aceite de ajo y dialil disulfuro en las que no se observó efecto significativo del aditivo sobre la producción de metano tras 18 días de tratamiento; sin embargo, ambos aditivos redujeron significativamente la producción de metano *in vitro* (Soliva et al., 2011; Busquet et al., 2005). La discrepancia observada con las mismas dosis *in vitro* e *in vivo* apoya la necesidad de ratificar *in vivo* los resultados observados en sistemas de simulación de la fermentación ruminal. Diversos factores pueden explicar las discrepancias *in vitro* vs *in vivo*: los compuestos utilizados en este estudio tenían muy baja solubilidad en agua y, por tanto, la distribución homogénea en todos los compartimentos del rumen podría no haberse logrado plenamente. Además, la administración del compuesto en dos tomas al día puede limitar su permanencia en el rumen, en comparación con un suministro más continuado durante el día. Los resultados *in vivo* de este trabajo tras 30 días de tratamiento no confirman los observados anteriormente *in vitro* en cuanto al efecto antimetanogénico del PTS por lo que se requieren nuevos estudios para corroborar si dosis superiores a las utilizadas en este trabajo o vías más eficientes de administración tendrian un efecto diferente sobre las emisiones de metano y la fermentación ruminal *in vivo*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abecia L., Toral P., Martín-García A., Martínez G., Tomkins N., Molina-Alcaide E., Newbold C. & Yáñez-Ruiz D. 2012. J. Dairy Sci. 95:2027-2036. ● Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., Carro M.D. & Kamel C. 2005. J. Dairy Sci. 88, 4393–4404. ● Chaves A., Stanford K., Dugan M.E.R., Gibson L.L., McAllister T.A., Van Herk F. & Benchaar C. 2008. Livest. Sci. 117:215-224. ● Hart K. J., Yáñez-Ruiz D. R., Duval S. M., McEwan N. R. & Newbold C. J. 2008. Anim. Feed Sci. Technol. 147:8-35. ● Isac M. D., García M. A., Aguilera J. F. & Molina Alcaide E. 1994. Archv. Tieremahr. 46:37-50. ● Klevenhusen F., Zeitz J.O., Duval S., Kreuzer M. & Soliva C.R. 2011. Anim. Feed Sci. Technol. 166–167:356-363 ● Koch H. & Lawson L. 1996. Maryland: Williams & Wilkins xv, 329p. ● Kongum P., Wanapat M., Pakdee P. & Navanukraw C. 2010. Livest. Sci. 127:38-44. ● Martínez G., Abecia L., Martín-García A.I., Ramos E., Molina-Alcaide E., Ranilla M. J. & Yáñez-Ruíz D.R. 2011. Poster Presentations. Advances in Animal Biosciences. 2:488 ● Martínez G., Abecia L., Martín-García A.I., Ramos E., Molina-Alcaide E. & Yáñez-Ruíz D.R. 2012. 14th International Seminar of the FAO-CIHEAM. S4-0-02 ● Patra A.K., Kamra D., Bhar R., Kumar R. & Agarwal N. 2011. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 95:187-191 ● Prieto C., Aguilera J., Lara L. & Fonollá J. 1990. Br. J. Nutr. 63:155-163. ● Soliva C.R., Amelchanka S.L., Duval S.M. & Kreuzer M. 2011. Br. J. Nutr. 106:114-122. ● Williams Y.J., Popovski S., Rea S.M., Skillman L.C., Toovey A.F., Northwood K.S. & Wright A.G. 2009. Appl. Environ. Microbiol. 75:1860-1866. ● Yang W., Benchaar C., Ametaj B.N., Chaves A.V., He M.L. & McAllister T.A. 2007. J. Dairy Sci. 90:5671-5681. ● Yáñez-Ruiz D.R., Moumen A., Martin-Garcia A.I. & Molina-Alcaide E. 2004. J. Anim. Sci.82: 2023-2032.

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 E. Jiménez, T. García, F. Ramos y P. Rufino.

Tabla 1. *Efecto del tratamiento con propyl propane thiosulfinate (PTS) sobre el peso vivo, ingesta de materia seca, producción de metano, concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y relación acético:propiónico a los 7, 14, 21 y 28 días de administración del aditivo en caprino (n=12).*

	Días											
	7		14		21		28					
	Tratamiento									*P*-valor		
	C	PTS	C	PTS	C	PTS	C	PTS	EEM	T	tiempo	Txt
Peso vivo (Kg)	36,2	39,2	36,6	39,4	36,0	39,0	37,0	39,5	2,34	0,422	0,167	0,688
Ingesta de MS (g/animal/d)	659	700	683	720	689	656	715	767	42,3	0,697	0,348	0,629
CH_4, L/Kg MSingerida	30,5	31,0	31,4	27,9	30,6	28,3	31,4	27,6	1,68	0,211	0,854	0,501
AGV (mmol/L)	76,9	74,2	70,9	70,7	75,4	73,1	75,7	71,5	2,26	0,483	0,903	0,991
Acético/Propiónico	3,69	3,83	4,06	3,92	4,29	3,96	3,82	3,65	0,109	0,433	0,520	0,494

PTS: propil propano tiosulfinato, C: Control (sin tratamiento).
EEM: error estándar de la media, MS: materia seca.
T: tratamiento; Txt: interacción del tratamiento con el tiempo.
CH_4, L/Kg MS ingerida: Medición de 2 días consecutivos.

EFFECTS OF THE ADDITION OF THIOSULFINATE ON RUMEN FERMENTATION AND METHANE PRODUCTION IN GOATS

ABSTRACT: Twelve non-lactating goats were used to test the effect of the treatment of propyl propane thiosulfinate (PTS) on dry matter intake, body weight and rumen fermentation for 30 days. Goats received a diet based on alfalfa hay and a concentrate (F:C 1:1), and were divided in two groups, treated with 0,2 g/kg BW per day of PTS or without treatment (control). Dry matter intake, body weight, VFA and methane production (L/kg dry matter intake) were analysed on days 7, 14, 21 and 28. Neither dry matter intake, body weight, methane production, total VFA concentration and acetate:propionate ratio were affected ($P \geq 0,211$) by the PTS treatment after 28 days of treatment. No time effect was observed ($P \geq 0,167$). Probably the dose, the type of compound or the lack of homogenous distribution of compound within the rumen and the higher dilution rate *in vivo* were responsible for the lack of significant effects compared with in vitro experiments. Whether a reduction in CH_4 emissions would be achieved *in vivo* with higher doses of the active compound requires further research.

Keywords: propyl propane thiosulfinate, methane, rumen fermentation, goats.