INFLUENCIA DEL ACEITE ESENCIAL DE AJO SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y LA DIVERSIDAD BACTERIANA EN FERMENTADORES RUSITEC

García-Rodríguez J.[1], Carro M.D.[2], Saro C.[1], Mateos I.[1], Tejido M.L.[3], Ranilla M.J.[1,3]
[1]Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 León, España
[2]Departamento de Producción Agraria, ETSIAAB, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España. [3]Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC), Finca Marzanas s/n, 24346 Grulleros, León, España. mjrang@unileon.es

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han estudiado múltiples estrategias alternativas al uso de antibióticos promotores del crecimiento como aditivos en la alimentación de los rumiantes. Entre estas estrategias se encuentra el uso de los compuestos bioactivos de las plantas, como son los aceites esenciales, capaces de modificar la fermentación ruminal. El aceite esencial de ajo ha mostrado resultados prometedores en anteriores estudios *in vitro* de corta duración (Busquet *et al*., 2005; Mateos *et al*., 2013), pero los estudios para determinar su efecto a medio o largo plazo son muy escasos. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la adición de aceite esencial de ajo como modificador de la fermentación ruminal *in vitro* y la diversidad bacteriana en fermentadores semicontinuos tipo Rusitec, empleando una dieta formulada para ovejas lecheras.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando cuatro fermentadores Rusitec en un diseño cruzado, con dos períodos de incubación de 14 días de duración cada uno de ellos. Cada fermentador recibió diariamente 15 g de concentrado y 15 g de heno de alfalfa, que se administraron dentro de dos bolsas de nailon (100 µm de tamaño de poro) y se mantuvieron dentro del fermentador durante 24 h y 48 h, respectivamente. En cada período de incubación dos fermentadores recibieron diariamente aceite esencial de ajo (180 mg/L Axiss France SAS (Bellegarde Sur Valserine, Francia)) disuelto en etanol y los otros dos (control) recibieron la misma cantidad de etanol. La dosis de aceite esencial de ajo se seleccionó a partir de los resultados obtenidos por Mateos *et al.* (2013) con el mismo aceite usando cultivos no renovados de microorganismos ruminales.

El día 1 se inoculó el sistema con contenido ruminal (líquido y sólido) de cinco ovejas fistuladas en el rumen que recibían la misma dieta incubada en los fermentadores. Los días 9, 10, 11 y 12 se determinaron la digestibilidad aparente de la dieta y la producción diaria de ácidos grasos volátiles (AGV), amoniaco y metano. Los días 13 y 14 se determinó la síntesis de proteína microbiana utilizando ^{15}N como marcador microbiano (Martínez *et al.,* 2010) y se tomaron muestras del contenido sólido y líquido de los fermentadores para analizar la diversidad de las poblaciones bacterianas mediante el análisis automático del espacio intergénico ribosomal (ARISA) según lo descrito por Saro *et al*. (2012).

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de la varianza con medidas repetidas utilizando el procedimiento MIXED del SAS. El tratamiento, el período de incubación, el día de muestreo y sus interacciones se consideraron efectos fijos. En el análisis del crecimiento microbiano y la diversidad bacteriana se tomaron como efectos fijos el tratamiento, la tanda de incubación y su interacción. En ambos casos se consideró el fermentador como efecto aleatorio. La significación estadística se estableció en $P<0,05$. Finalmente, se realizó un análisis de componentes principales con los datos de los perfiles de ARISA de todas las muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los efectos del tratamiento con AJ sobre los parámetros medidos. La suplementación con aceite esencial de ajo no afectó ($P>0,05$) a la digestibilidad aparente de ninguna de las fracciones de la dieta, el pH del contenido de los fermentadores o a la producción de amoniaco. De la misma forma no se detectaron efectos ($P>0,05$) del AJ sobre la producción total de AGV, pero se observó un aumento ($P<0,001$) de la proporción molar de propiónico y un descenso de la de butírico, así como una tendencia al descenso del acético ($P=0,08$). La relación acético:propiónico también disminuyó ($P<0,001$) con el tratamiento. En estudios de fermentación *in vitro* con líquido ruminal se ha mostrado de forma constante y repetida que los compuestos derivados del ajo tienen la capacidad de

reducir la proporción molar de acético y de aumentar la de propiónico (Mateos *et al*., 2013) sin afectar a la digestibilidad de nutrientes. La producción de metano se vio reducida (P<0,001) un 12,1 % por la adición de AJ, confirmando el potencial de los compuestos derivados del ajo para inhibir la producción de metano sin afectar negativamente a la de AGV ni a la digestibilidad. (Soliva *et al*., 2011). La síntesis de proteína microbiana no se vio afectada (P>0,05) por el tratamiento con el aditivo. Por otra parte, no se observaron cambios significativos (P>0,05) debidos a la adición de AJ en el número de especies bacterianas predominantes ni en su diversidad en la fase sólida o líquida de los fermentadores Rusitec.

***Tabla 1**. Efecto de la adición de aceite esencial de ajo (Ajo) sobre la digestibilidad aparente de la dieta, la producción de ácidos grasos volátiles (AGV), amoniaco (NH_3) y metano, la síntesis de proteína microbiana y las poblaciones bacterianas en la fase sólida y líquida en fermentadores Rusitec.*

	Control	Ajo	eem[1]	*P*-valor
Digestibilidad aparente dieta (%)				
Materia orgánica	61,5	61,7	1,65	0,83
Fibra neutro detergente	45,9	44,6	2,87	0,36
NH_3 (mg/d)	209	220	86,6	0,42
AGV totales (mmol/d)	102	100	14,0	0,46
Acético (mol/100 mol)	54,5	53,6	0,34	0,08
Propiónico (mol/100 mol)	14,9	17,1	0,20	0,001
Butírico (mol/100 mol)	17,2	14,6	0,11	0,001
Acético/Propiónico (mol:mol)	3,67	3,14	0,013	0,001
Metano (mmol/d)	29,5	26,3	0,31	0,001
Flujo de N microbiano total (mg/d)	237	247	39,7	0,19
Eficiencia síntesis microbiana[2]	23,0	25,5	0,61	0,09
Diversidad bacteriana				
Número de picos:				
Fase sólida	37,8	34,3	1,01	0,48
Fase líquida	35,3	36,2	1,15	0,28
Índice de Shannon:				
Fase sólida	3,63	3,53	0,031	0,38
Fase líquida	3,53	3,58	0,036	0,39

[1] error estándar de la media; [2] g N microbiano/kg MO aparentemente fermentada

La figura 1 ilustra el análisis de componentes principales obtenido con los datos del ARISA. Las muestras presentaron agrupamientos marcadamente diferentes, mostrando una separación clara tanto entre las poblaciones bacterianas de las fases sólida y líquida (vertical) como entre las correspondientes al control y al tratamiento AJ (horizontal). Estos resultados concuerdan con la alta compartimentalización del sistema RUSITEC e indican que el AJ modificó la estructura de las poblaciones bacterianas desarrolladas en los fermentadores.

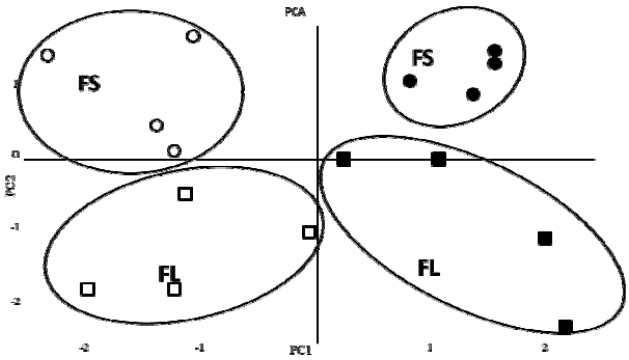


Figura 1. *Análisis de componentes principales generado a partir de los perfiles del ARISA de las bacterias asociadas a la fase sólida (FS, ○) y líquida (FL, □) en los fermentadores control (marcadores vacíos) y en los que recibieron aceite esencial de ajo (marcadores llenos)*

En conclusión, en fermentadores Rusitec que recibieron una dieta mixta la utilización de aceite esencial de ajo redujo la producción de metano sin afectar negativamente a la producción de AGV, la degradabilidad de la dieta o la diversidad bacteriana, aunque la estructura de las comunidades bacterianas en los fermentadores tratados fue diferente de la encontrada en los fermentadores control. Este estudio *in vitro* confirma el potencial de los compuestos derivados del ajo para modificar la fermentación ruminal de manera favorable, mitigando el impacto de la producción de metano sobre el medio ambiente sin repercutir negativamente en la utilización digestiva del alimento recibido por el animal.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

• Busquet, M. *et al.* 2005. J. Dairy Sci. 88: 4393-4404. • Mateos, I. *et al.* 2013. Anim. Prod. Sci. 53: 299-307. • Saro, C. *et al.* 2012. J. Anim. Sci. 90: 4487-4494. • Soliva, C. *et al.* 2011. Br. J. Nutr. 106: 114-122. • Martinez, M.E. *et al.* 2010. Anim. Feed Sci. Technol. 158 : 126-135.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos AGL2008-04707-C02-02 (financiado por el MINECO) y Acción Integrada AIB2010NZ-00190.

INFLUENCE OF GARLIC ESSENTIAL OIL ON RUMINAL FERMENTATION AND BACTERIAL DIVERSITY IN RUSITEC FERMENTERS

ABSTRACT: The objective of the current study was to evaluate the effects of adding garlic essential oil on *in vitro* ruminal fermentation in Rusitec fermenters. Four fermenters were used in a crossover design and two incubation runs, with a control (no additive) and a dose of 180 mg/L of garlic essential oil. Fermenters were inoculated with ruminal contents from 5 sheep fed a 50:50 alfalfa hay:concentrate diet and the same diet was fed to the fermenters. Supplementation with garlic essential oil did not affect (P>0.05) total volatile fatty acid production, fermenters' pH or ammonia production, but increased (P<0.001) propionate proportion and decreased (P<0.001) that of butyrate. In addition, acetate/propionate ratio was decreased (P<0.001) and there was a trend (P=0.077) to lower acetate proportions in the garlic essential oil-supplemented fermenters. Methane production was significantly decreased (P<0.001) by garlic essential oil (29.5 vs 26.3 mmol/d for control and garlic essential oil, respectively). Microbial protein synthesis and its efficiency were not affected (P>0.05) by AJ, but garlic essential oil-supplementation affected the structure of bacterial populations in both the solid and liquid phases of the fermenters The results show the potential of essential garlic oil as a ruminal fermentation modifier, decreasing methane production without affecting the nutritive utilization of diet.

Keywords: garlic oil, Rusitec fermenters, microbial growth, bacterial diversity.