

Desfaunación del rumen con aceites de maíz (*Zea mays* L.) y coco (*Cocos nucifera*) y su efecto sobre la ganancia de peso en ovinos

María E. Méndez, Néstor E. Obispo* y Maribel Valdéz

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Apdo. 4653. Maracay 2101. Aragua, Venezuela.

RESUMEN

Los aceites de coco (AC) (*Cocos nucifera*) y de maíz (AM) (*Zea mays* L.) fueron evaluados como agentes desfaunantes del rumen en ovinos alimentados con forraje a pastoreo y su efecto sobre la ganancia diaria de peso (GDP) después de la aplicación de una única dosis de AC. En el primer experimento, seis ovinos fistulados y adaptados de cánula ruminal (de 40 ± 3 kg PV) y alimentados con heno de pasto Bermuda (*Cynodon dactylon*) fueron asignados a los siguientes tratamientos: control (sin aceite) y dosificación vía intraruminal con AM y AC (dosis aceite en base al 4% del consumo diario de materia seca). El AC redujo a casi cero la microfauna en el segundo día de tratamiento ($P < 0,01$) y el AM sólo una reducción ($P < 0,01$) de la población cercana al 40% a partir del quinto día en comparación con el control. En el segundo experimento, 24 ovinos con un peso promedio de $20,5 \pm 2,4$ kg, pastoreando Tanner (*Brachiaria radicans*), fueron asignados al azar a dos tratamientos donde se aplicó o no, vía oral, una dosis única de AC (2 mL/kg PV). Los ovinos que recibieron el AC, mantuvieron su condición de desfaunados ($P < 0,01$) durante aproximadamente siete días y con números más bajos ($P < 0,01$) de protozoarios que los del grupo control durante el resto del período experimental (30 días). Esta condición de desfaunado o de bajo número de protozoarios, se reflejó en un incremento ($P < 0,05$) de la GDP que disminuyó en el tiempo ($P < 0,05$), a medida que el número de protozoarios se incrementó. El AC resultó un buen desfaunante, cuyo efecto ocurre rápidamente después de su llegada al rumen.

Palabras clave: Desfaunación, aceite de coco, aceite de maíz, repoblación del rumen, protozoarios del rumen.

Rumen defaunation with maize (*Zea mays* L.) and coconut (*Cocos nucifera*) oils, and its effects on daily weight gain in sheep

ABSTRACT

Coconut (CO) (*Cocos nucifera*) and maize (MO) (*Zea mays* L.) oils were evaluated as rumen defaunating agent in growing sheep that received a single dose of CO to evaluate its effect on the daily weight gain (DWG). In the first experiment, six cannulated sheep (40 ± 3 kg LW) and fed with Bermuda grass hay (*Cynodon dactylon*) were assigned to three treatments: control (without oil), and intraruminal dosage with MO or CO (oil dosing at 4% of daily DMI), to assess changes in the protozoa number. The CO eliminated protozoa at the second day ($P < 0.01$), MO reduced the protozoa number close to 40% as compared to the control ($P < 0.01$). In the second experiment, 24 sheep (20.5 ± 2.4 kg LW), grazing on Tanner grass (*Brachiaria radicans*) were assigned to two treatments: CO

*Autor de correspondencia: Nestor Obispo

E-mail: nobispo@gmail.com

orally dosed or not (2 mL/kg LW). Both groups were kept in a mixed flock as currently was managed in the farm. CO group remained defaunated ($P < 0.01$) for 7 days and protozoa number remained lower than control for the rest of the experimental period (30 d). Defaunation resulted in an increase ($P < 0.05$) on DWG, but was decreasing in the following days ($P < 0.05$) as protozoa number was increasing. CO was a powerful defaunant agent, whose effect occurred quickly after its introduction in the rumen.

Key words: Defaunation, coconut oil, maize oil, rumen refaunation, rumen protozoa.

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos en el rumen son responsables de la degradación del componente fibroso de los forrajes y el dinamismo de sus poblaciones está regido por las variaciones en la dieta, edad, modificadores y aditivos, la salud del animal, ubicación geográfica, época del año y régimen de alimentación, entre otros (Hungate, 1966; Ogimoto e Imai, 1981).

Animales alimentados con forrajes de mediana a baja calidad manifiestan cambios en la microbiota ruminal que pueden afectar negativamente su actividad productiva, particularmente por una disminución en la eficiencia de transformación de los nutrientes del forraje a proteína de alto valor biológico como la microbiana. Por esta razón, las investigaciones se orientan a desarrollar estrategias de manipulación del ecosistema ruminal en la búsqueda de incrementar los procesos metabólicos que allí ocurren (Hegarty, 1999)

Bajo condiciones de alimentación con forrajes, los protozoarios ruminales parecieran ser una limitante para la síntesis de proteína microbiana, dado que ejercen una acción depredadora, no sólo sobre ellos mismos, sino también sobre el resto de la microflora ruminal, razón que se ha considerado para proponer su eliminación (desfaunación) o reducción (desfaunación parcial) (Dehority, 2008; Lee *et al.*, 2001; Williams, 1991).

Variada ha sido la metodología utilizada para desfaunar, desde químicos (Demeyer, 1982; Hart *et al.*, 2008; Klita *et al.*, 1996; Makkar y Becker, 1997; Wei-lian *et al.*, 2005), físicos (Skillman *et al.*, 2006), manipulación directa (Dehority, 2005; Franzolin y Dehority, 1996; Obispo y Dehority, 1998), con resultados variados no sólo en las respuestas de desfaunación efectiva, sino también desde el punto de vista de la eficiencia digestiva y síntesis microbiana, y en consecuencia con variaciones en la respuesta productiva del animal (Eugène *et al.*, 2004).

Se han realizado algunas experiencias utilizando aceites vegetales con perfiles lipídicos diferentes, con efectos defaunantes igualmente variables como el aceite de maíz (*Zea mays*) (AM), que está constituido por ácidos grasos (AG) de cadena larga insaturados (AGCL), donde se destacan el linoleico (C18:1) y linolenico (C18:2), ambos insertos en el proceso de

biohidrogenación que ocurre en el rumen por parte de las bacterias ruminales. No obstante, éstos ácidos reducen significativamente la actividad de los microorganismos que degradan la fibra dado sus efectos tóxicos (Jenkins, 1993; Machmüller, 2006; Ungerfeld *et al.*, 2005). Su inclusión en las raciones con alta proporción de forraje puede afectar la digestibilidad de los carbohidratos estructurales (Palmquist, 1988; Ben Salem *et al.*, 1993).

Otro aceite utilizado es el aceite de coco (*Cocos nucifera*) (AC) compuesto por ácidos grasos de cadena media (AGCM), como el láurico (C12) y mirístico (C14). Estos ácidos saturados en el AC constituyen el 50,4% y 17,5% de este perfil, respectivamente. Ambos tienen efectos importantes sobre la membrana de los protozoarios, inmovilizándolos y permitiendo así su remoción del ambiente ruminal (Dohme *et al.*, 2001; Machmüller y Kreuzer, 1998; Matsumoto *et al.*, 1991).

Basado en las premisas anteriores, el presente trabajo tuvo como objetivos evaluar el efecto desfaunante del AM y AC, así como el efecto de la desfaunación sobre la ganancia diaria de peso (GDP) en ovinos a pastoreo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Efecto desfaunante de los aceites de coco y de maíz

Esta investigación se realizó en la Unidad de Rumiantes del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Ceniap), adscrito al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Seis ovinos adultos ($40,0 \pm 3,0$ kg PV) West African, machos castrados fistulados y adaptados con cánulas en el rumen, alimentados con heno de pasto Bermuda (*Cynodon dactylon*) (Cuadro 1) y suplementados *ad libitum* con sales minerales fueron asignados al azar, en un diseño completamente aleatorizado (dos por tratamiento) a los siguientes tratamientos: T0 (Control): heno de pasto Bermuda; T1: T0 + 48 mL de AM y T2: T0 + 48 mL de AC. La dosificación de los aceites se realizó vía cánula ruminal una hora antes de proporcionar el alimento (08:00h), el cual se ofertó a razón del 3% del PV. La dosis de aceite se calculó en base al 4% de la materia seca (MS) del alimento consumido (Palmquist y Jenkins, 1980).

Los animales alojados en puestos individuales fueron tratados con los respectivos aceites hasta lograr su completa desfaunación, la cual fue comprobada por evaluaciones diarias del contenido ruminal. Las muestras de contenido ruminal (aproximadamente 20 g), se obtuvieron por aspiración (vía cánula) con una bomba de succión, una hora antes de suministrarse el alimento y llevadas al Laboratorio de Microbiología y Biotecnología del Rumen del Ceniap para ser procesadas de acuerdo al protocolo para el conteo de protozoarios descrito por Dehority (1984).

Desfaunación y ganancia diaria de peso

Este experimento se realizó en la finca Marianela, ubicada en el municipio Páez, sector Caratepe, vía La Misión, estado Portuguesa, Venezuela. Considerando el poder desfaunante del AC evaluado en el primer experimento se desarrolló una experiencia de campo con la finalidad de evaluar en ovinos a pastoreo, no sólo la persistencia de la desfaunación bajo presión de repoblación, sino la respuesta en la GDP por efecto de la eliminación de los protozoarios. A tales efectos se consideró la experiencia de Machmüller y Kreuzer (1998) quienes usaron el AC a razón del 7% de la materia seca del alimento. Este valor si bien fue tres unidades porcentuales superior a la del primer experimento, se calculó para ser proporcionada en una sola aplicación oral como dosis efectiva para lograr la desfaunación (evaluada en una experiencia previa, no incluida). Cuando se calculó en términos del peso vivo esta dosis resultó en 2 mL/kg.

Se emplearon 24 ovinos mestizos de la raza West African ($20,5 \pm 2,4$ kg PV), machos castrados, distribuidos al azar a dos tratamientos (doce por grupo), no tratados con aceite (control) y tratados con una dosis única de AC. Los ovinos fueron identificados con un collar de color rojo o verde para su rápida ubicación según el grupo de tratamiento y mantenidos con el rebaño de la finca, pastoreando en potreros de pasto Tanner (*Brachiaria radicans*) bajo las condiciones habituales la unidad productiva. En el Cuadro 1 se presentan las características de los forrajes utilizados en los experimentos.

El experimento tuvo una duración de 30 días, iniciándose la toma de muestras para el conteo de los protozoarios y pesaje el día cero antes de la aplicación de la dosis única y luego con una periodicidad de siete días para completar cinco mediciones. Los días entre pesaje fueron considerados como intervalos para determinar los correspondientes cambios de peso. Las muestras de contenido ruminal fueron obtenidas por aspiración, vía esofágica, antes de que los animales fueran llevados al potrero de pastoreo. Las muestras fueron procesadas al igual que en el primer experimento.

Cuadro 1. Composición química de los pastos

Pasto	Componente (%)†					
	PC	EE	FDN	FDA	Ca	P
Bermuda	14,3 ±0,8	1,65 ±0,4	60,07 ±13,2	42,3 ±9,2	0,57 ±3,5	0,27 ±8,1
Tanner	8,2 ±0,02	3,5 ±0,2	65,56 ±3,42	36,9 ±2,54	0,23 ±0,07	0,13 ±0,08

† Promedio \pm error estándar.

Estadística

Los datos en ambas experiencias fueron analizados estadísticamente como medidas repetidas (Littell *et al.*, 1998) utilizando el PROC MIXED del programa SAS (SAS, 2005). Las medias ajustadas a sus mínimos cuadrados se compararon por la prueba de Tukey para un nivel de significancia del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto desfaunante de los aceites de coco y de maíz

La acción desfaunante del AM y del AC en el rumen de ovinos alimentados con heno de pasto Bermuda se puede observar en la Figura 1. Se destaca el rápido efecto del AC para reducir ($P < 0,01$) el número de protozoarios ruminales al segundo día de tratamiento. Dado que con el AC se logró una desfaunación completa, no se administró más este tratamiento a partir del tercer día. En evaluaciones diarias sucesivas, se observó que los animales continuaron desfaunados hasta el día 12, a partir del cual se observó un ligero incremento poblacional no significativo.

En el caso del AM, se observó una disminución significativa ($P < 0,01$) de la población de protozoarios en el rumen el quinto día de tratamiento; sin embargo, esta disminución no alcanzó los niveles de reducción del AC. Sin embargo, la población de los protozoarios se mantuvo por debajo ($P < 0,05$) de los valores observados en el grupo control.

Debido a que el AM no alcanzó un efecto de desfaunación total, los animales de este tratamiento continuaron recibiendo el aceite hasta el día 15. Una explicación de la razón de este comportamiento de las poblaciones de protozoarios en presencia del AM, no es posible a este momento. Pareciera que inicialmente ocurre un proceso en todo el ambiente ruminal que afecta a los protozoarios, pero dada las complejas interacciones de la microbiota y de algunas especies de protozoarios, en particular frente a estos lípidos y puede que ocurran procesos de adaptación parcial, con los cuales se supera el efecto deletéreo que estas grasas tienen sobre los protozoarios (Palmquist y Jenkins, 1980).

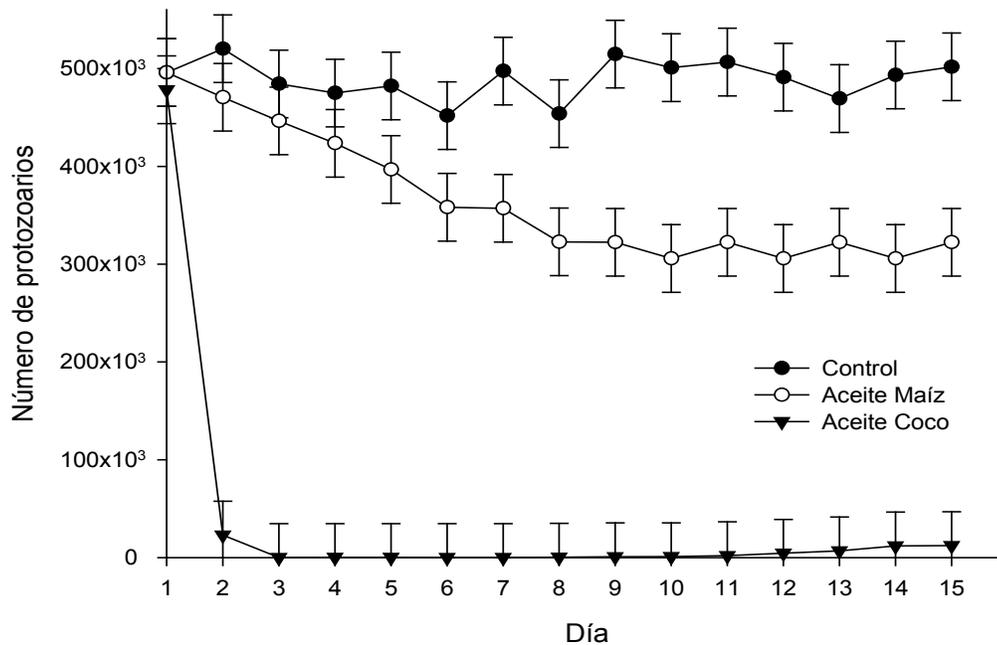


Figura 1. Número de protozoarios del rumen de ovinos tratados, vía cánula ruminal, con los aceites de maíz y de coco.

El efecto tóxico de los AG sobre los microorganismos del rumen ha sido relacionado con el perfil lipídico de estos. Los aceites vegetales son fuente de AG (saturados e insaturados), los cuales de diferente manera pueden tener efectos tóxicos o estimulatorios, dependiendo del género y especie de protozoario (Cieslak *et al.*, 2006; Ivan *et al.*, 2001; Kišidayová *et al.*, 2006). Se ha observado una reducción significativa, *in vitro*, en las poblaciones de *Eremoplastron bilobum* en presencia de los aceites ricos en AGCL insaturados C18:2 y C18:3, y algunos incrementos en la población de *Entodinium spp.* (Cieslak *et al.*, 2006; Kišidayová *et al.*, 2006).

Los AG insaturados, como los contenidos en el aceite de maíz, una vez ingresados al ambiente ruminal son biohidrogenados por las bacterias y pasan a formar parte de la fosa de hidrógeno (Czerkawski *et al.*, 1966); sin embargo, a pesar de esta hidrogenación se ha observado una disminución en el tamaño de la microfauna con los incrementos en el grado de insaturación de estos AG (Oldick y Firkins, 2000).

Otra posible explicación al comportamiento de los protozoarios bajo AM en este experimento pudiera asociarse al hecho de que la composición de la membrana de los protozoarios, constituida de fosfolípidos producto de la síntesis *de novo* (Harfoot y Hazlewood, 1997; Jenkins, 1993), sea afectada por el nivel y tipo de lípidos suplementados en la dieta (Bauchart *et al.*, 1990; O'Kelly y Spiers, 1991). Probablemente, bajo

las condiciones de este experimento, debido al excedente de los AG ocurrió una inhibición total de la síntesis *de novo* por la alta sensibilidad de los protozoarios en sus componentes enzimáticos (Demeyer *et al.* 1978; Goodrich-Tanrikulu *et al.*, 1994; Sutton *et al.*, 1975).

A diferencia del AM, el AC está constituido por una elevada proporción de AGCM (C12 y C14) los cuales producen efectos diferentes sobre la microbiota ruminal (Dohme *et al.*, 2001). Una vez que ingresan los AG saturados al rumen estos son activados, transportados y regulados dentro de las células, abandonando el ecosistema ruminal entre un 85-90%. Su fuerte sobre la superficie de los protozoarios, a través de los procesos de adsorción, destrucción de los intercambios protónicos y posterior inducción de lisis celular (Matsumoto *et al.*, 1991), les permite a estos AGCM actuar con rapidez y mantener la eficacia del efecto desfaunante a largo plazo (Lovett *et al.*, 2003; Machmüller *et al.*, 1998).

El C12 como monolauril tiene comprobada acción bactericida, antiviral y fungicida (Bergesson *et al.*, 2001; Lieberman *et al.*, 2006; Řiháková *et al.*, 2001). Como agente bactericida es biológicamente mucho más activo que el C12 individualmente y es muy probable que el ingreso del AC al rumen detone la síntesis de este monoéster (Lieberman *et al.*, 2006). El mecanismo de la acción antibiótica parece involucrar la solubilización de las membranas y de interferencia con los mecanismos de transducción en la replicación celular

(Projan *et al.*, 1994). Los efectos del monolauril como antibiótico se le han atribuido a los grupos hidroxilos (Kabara, 1984), efecto que se ve disminuido en dietas contentivas de calcio en cantidades que sobrepasen los requerimientos del animal por la tendencia a formarse jabones insolubles (Machmüller, 2006).

Por otro lado, pareciera que el efecto del C14, igualmente presente en el AC, sobre los microorganismos sensibles (protozoarios, archaea bacterias, bacterias Gram positivas, entre otros), potencia la acción del C12 a través de una sinergia. Cuando el C12 ha sido evaluado en combinación con el C14 se ha observado un efecto sinérgico sobre la disminución del número de protozoarios y las emisiones de metano en rumiantes (Machmüller, 2006).

Es muy probable que el efecto de ambos tipos de aceite, AM y AC como desfaunantes, esté asociado en primera instancia a una eliminación parcial de los microorganismos del rumen debido a la cobertura que hacen estos aceites sobre las partículas del alimento, impidiendo los procesos de adherencia, necesarios para sus actividad y luego a los efectos directos de estos aceites sobre el metabolismo microbiano (Palmquist y Jenkins, 1980).

Desfaunación y ganancia diaria de peso

Las variaciones en el número total protozoarios después de la aplicación de una sola dosis de AC se muestra en la Figura 2. Se puede observar que durante los primeros siete días ocurrió una desfaunación del rumen en los animales tratados. El efecto del AC sobre las poblaciones de protozoarios del rumen estuvo relacionado con el tiempo post tratamiento ($P < 0,01$). Este efecto no fue permanente en el tiempo, y dada la presión de repoblación (por la relación de los animales tratados con los no tratados), ocurrió un proceso gradual de repoblación de la microfauna.

Los resultados de esta experiencia de campo, y tratamiento con una sola dosis, confirma el efecto tóxico que tiene el AC sobre estos organismos (Machmüller y Kreuzer, 1998; Matsumoto *et al.* 1991; Newbold y Chamberlain 1988; Sutton *et al.* 1983). Sin embargo, para mantener un número significativamente bajo de protozoarios en el rumen y considerar al ovino como desfaunado, condición que fue sólo mantenida en este experimento por un lapso alrededor de los siete días, probablemente sea necesario tratamientos aplicados a intervalos regulares con el AC para lograr este objetivo. Como se observa en la Figura 2, en los días posteriores a la primera semana post tratamiento, comenzó un proceso de repoblación gradual. El número de protozoarios se aproxima al del control en un lapso alrededor de los 30

días o más, que va a depender de la tasa de reproducción de cada género y especie relacionada (Eadie y Gill, 1971; Williams y Withers, 1993; Dehority, 1998; Lovett *et al.*, 2003; Belanche *et al.*, 2007).

La mayor GDP de los animales tratados con AC se observó en el primer intervalo (Figura 3) donde el rumen mostró una condición de desfaunado (Figura 2). Las GDP en los siguientes intervalos fueron superiores a los del control y pudieran relacionarse con el bajo número de fauna observada en los intervalos correspondientes. Mejoras significativas de la GDP en animales desfaunados han sido observada por Bird y Leng (1985) y Bird *et al.* (1979). Camacho *et al.* (2005) en vacas lecheras suplementadas con la pulpa seca del coco cuyo contenido en este aceite es relativamente alto, no observaron efecto significativo sobre el consumo de alimento, pero sí un aumento en la GDP.

Un aspecto resaltante de esta experiencia fue la GDP de los animales desfaunados, la cual se pudiera decir que se corresponde con los niveles de bajo número de protozoarios en cada intervalo de medición. Una explicación para estos valores de GDP pudiera ser debida a cambios que ocurren en el ambiente ruminal, no evaluados en esta investigación tales como variaciones en el perfil de ácidos grasos volátiles (Grummer *et al.*, 1983) e incremento de la síntesis de proteína microbiana (Ushida *et al.*, 1990).

CONCLUSIONES

En esta investigación el aceite de coco fue mejor agente desfaunante del rumen ovino que el aceite de maíz, lográndose una reducción del 99,9% en el número de protozoarios ruminales. En la experiencia de campo, donde se administró una sola dosis de aceite de coco (2 mL/kg PV) en ovinos a pastoreo, el rumen permaneció relativamente bajo en protozoarios por 30 días, período en el que se logró mejorar relativamente la ganancia diaria de peso.

LITERATURA CITADA

- Bauchart, D.; F. Legay-Carmier; M. Doreau; B. Gaillard. 1990. Lipid metabolism of liquid-associated and solid-adherent bacteria in rumen contents of dairy cows offered lipid-supplemented diets. *Br. J. Nutr.* 63: 563-578.
- Belanche, A.; G. de La Fuente; D. R. Yañez-Ruiz, L. Calleja; J. Balcells. 2007. Desarrollo anatómico y microbiológico del rumen: Efecto de la edad y tipo de dieta. *ITEA* 28: 276-278.

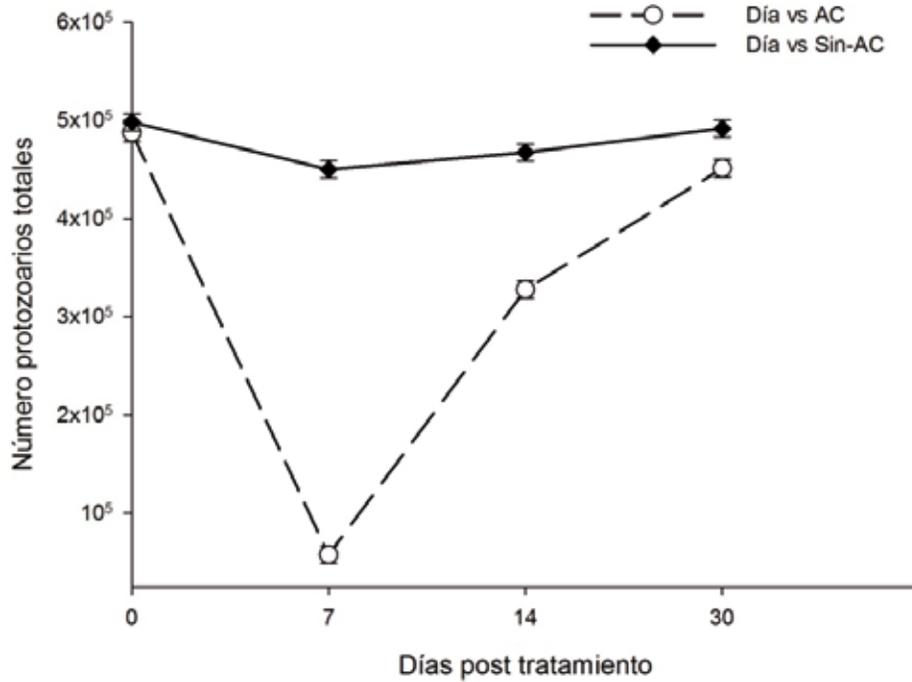


Figura 2. Crecimiento de la microfauna ruminal post tratamiento con una sola dosis oral de aceite de coco en ovinos pastoreando en potreros de pasto Tanner (*Brachiaria radicans*).

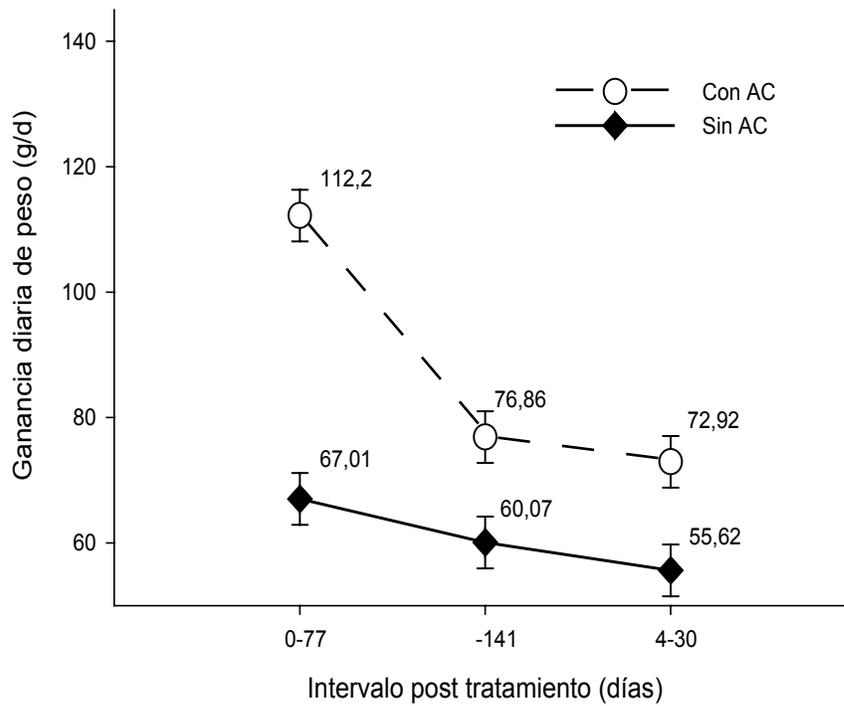


Figura 3. Ganancia diaria de peso en tres intervalos de medición posteriores a la dosificación oral con una única dosis de aceite de coco en ovinos pastoreando en potreros de pasto Tanner (*Brachiaria radicans*).

- Ben Salem, H.; R. Krzeminski; A. Ferlay; M. Doreau. 1993. Effect of lipid supply on *in vivo* digestion in cows: comparison of hay and corn-silage diets. *Can. J. Anim. Sci.* 73: 547-557.
- Bergesson, G.; J. Arnfinnsson; O. Steingrimsson; H. Thormar. 2001. Killing of Gram-positive cocci by fatty acids and monoglycerides. *AMPIS* 109: 670-678.
- Bird, S.; R.A. Leng. 1985. Productivity response to eliminating protozoa from the rumen of sheep. *Rev. Rural Sci.* 6:109-117.
- Bird, S.; M. Hill; R.A. Leng. 1979. The effects of defaunation of the rumen on the growth of lambs on low-protein-high-energy diets. *Br. J. Nutr.* 42:81-87.
- Camacho, L.; A. Cervantes; N. Salas. 2005. Efectos de la suplementación con copra sobre la producción de leche, su composición y la concentración de metabolitos en plasma de ganado bovino doble propósito en pastoreo. *Rev. Elect. Vet. REDVET-6(8)*. Disponible en línea: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080505.html>. Consultada 01/04/2008.
- Cieślak, A.; R. Miltko; G. Bełżecki; M. Szumacher-Strabel; A. Potkański; E. Kwiatkowska; T. Michałowski. 2006. Effect of vegetable oils on the methane concentration and population density of the rumen ciliate, *Eremoplastron dilobum*, grown *in vitro*. *J. Anim. Feed Sci.* 15:Suppl. 1, 15-18.
- Czerkawski, J. W.; K.L. Blaxter; F.W. Wainman. 1966. The metabolism of oleic, linoleic and linolenic acids by sheep with reference to their effects on methane production. *Br. J. Nutr.* 20: 349-362.
- Dehority, B. 2008. Improved *in vitro* procedure for maintaining stock cultures of three genera of rumen protozoa. *J. Anim. Sci.* 86:1395-1401.
- Dehority, B. 2005. Effect of pH on viability of *Entodinium caudatum*, *Entodinium exiguum*, *Epidinium caudatum*, and *Ophryoscolex purkynjei* *in vitro*. *J. Eukaryot. Microbiol.* 52: 339-342.
- Dehority, B. 1984. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. *Appl. Environ. Microbiol.* 48: 182-185.
- Dehority, B. 1998. Generation times of *Epidinium caudatum* and *Entodinium caudatum*, determined *in vitro* by transferring at various time intervals. *J. Anim. Sci.* 76: 1189-1196.
- Demeyer, D.I. 1982. Influence of calcium peroxide on fermentation pattern and protozoa in the rumen. *Arch. Tierernaehr.* 32:579-593.
- Demeyer, D.I.; C. Henderson; R.A. Prins. 1978. Relative significance of exogenous and de novo synthesized fatty acids in the formation of rumen microbial lipids *in vitro*. *Appl. Environ. Microbiol.* 35: 24-31.
- Dohme, F.; A. Machmuüller; A. Wasserfallen; M. Kreuzer. 2001. Ruminal methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets. *Letters Appl. Microbiol.* 32: 47-51.
- Eadie, J.M.; J. Gill. 1971. The effect of the absence of rumen ciliate protozoa on growing lambs fed on a roughage-concentrate diet. *Br. J. Nutr.* 26: 155-167.
- Eugène, M.; H. Archimède; D. Sauvant. 2004. Quantitative meta-analysis on the effects of defaunation of the rumen on growth, intake and digestion in ruminants. *Lives. Prod. Sci.* 85: 81-97.
- Franzolin, R.; B. Dehority. 1996. Effect of prolonged high-concentrate feeding on ruminal protozoa concentrations. *J. Anim. Sci.* 74:2803-2809.
- Goodrich-Tanrikulu, M.; A. Stafford, J. Lin; M. Makapugay; G. Fuller; T. McKeon. 1994. Fatty acid biosynthesis in novel pufa mutants of *Neurospora crassa*. *Microbiol.* 140:2683-2690.
- Grummer, R.R.; C.R. Staples; C.L. Davis. Effect of defaunation on ruminal volatile fatty acids and pH of steers fed a diet high in dried whole whey. *J. Dairy Sci.* 66: 738-1741.
- Harfoot, C.G.; G.P. Hazlewood. 1997. Lipid metabolism in the rumen. *In: Hobson, P.N.; D.S. Stewart (Eds.). The Rumen Microbial Ecosystem.* 2^{da} ed. Chapman y Hall, Londres, RU. pp. 382-426.
- Hart, K.J.; D.R. Yanez-Ruiz; S.M. Duval; N.R. McEwan; C.J. Newbold. 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147: 8-35.
- Hegarty, R.S. 1999. Practical methods for reducing methane emissions from Australian livestock. *In P.J. Reyenga; S.M. Howden (Eds). Meeting the Kyoto Target. Implications for the Australian Livestock Industries.* Bureau of Rural Sciences, Canberra, Australia. pp 87-94.
- Hungate, R.E. 1966. *The Rumen and its Microbes.* Academic Press, New York, EUA.
- Ivan, M.; P. Mir; K. Koenig; L. Rode; L. Neill; T. Entz; Z. Mir. 2001. Effects of dietary sunflower seed oil on rumen protozoa population and tissue concentration of conjugated linoleic acid in sheep. *Small Rumin. Res.* 41:215-227.

- Jenkins, T. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy. Sci.* 76: 3851-3863.
- Kabara, J.J. 1984. Antimicrobial agents derived from fatty acids. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 61:397-403.
- Kišidayová, S.; K. Mihaliková; Z. Váradyová; A. Potkaňski; M. Szumacher-Strabel; A. Cieślak; M. Čertík; D. Jalc. 2006. The effect of microbial oil, evening primrose oil, and borage oil on rumen ciliate populations in an artificial rumen (Rusitec). *J. Anim. Feed Sci.* 15: 153-156.
- Klita, P.T.; G.W. Mathison; T.W. Fenton; R.T. Hardin. 1996. Effects of alfalfa root saponins on digestive function in sheep. *J. Anim. Sci.* 74: 1144-1156.
- Lee, S.; J.K. Ha; K.J. Cheng. 2001. The effects of sequential inoculation of mixed rumen protozoa on the degradation of orchard grass cells walls by anaerobic fungus *Anaeromyces mucronatus* 543. *Can. J. Microbiol.* 47: 754-760.
- Lieberman, S.; M.G. Enig; H.G. Preuss. 2006. A review of monolaurin and lauric acid: natural virucidal and bactericidal agents. *Alter. Compl. Thera.* 12: 310-314.
- Littell, R.C.; P.R. Henry; C.B. Ammerman. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76: 1216-1231.
- Lovett, D.; S. Lovell; J. Stack; M. Callan; J. Finlay; Conolly; F.P. O'Mara. 2003. Effect of forage/concentrate ratio and dietary coconut oil level on methane output and performance of finishing beef heifers. *Lives. Prod. Sci.* 84: 135-146.
- Machmüller, A. 2006. Medium-chain fatty acids and their potential to reduce methanogenesis in domestic ruminants. *Agri. Eco. Environ.* 112: 107-114.
- Machmüller, A.; M. Kreuzer. 1998. Methane suppression by coconut oil and associated effects on nutrient and energy balance in sheep. *Can. J. Anim. Sci.* 79: 65-72.
- Machmüller, A.; D. A. Ossowski; M. Wanner; M. Kreuzer. 1998. Potential of various fatty feeds to reduce methane release from rumen fermentation *in vitro* (Rusitec). *Anim. Feed Sci. Tech.* 71: 117-130.
- Makkar, H.P.S.; K. Becker. 1997. Degradation of *Quillaja saponins* by mixed culture of rumen microbes. *Lett. Appl. Microbiol.* 25: 243-245.
- Matsumoto, M.; T. Kobayashi; A. Takenak; H. Itabashi. 1991. Defaunation effects of medium-chain fatty acids and their derivatives on goat rumen protozoa. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 37: 439-445.
- Newbold, C.J.; D.G. Chamberlain. 1988. Lipids as rumen-defaunating agents. *Proc. Nutr. Soc.* 43: 154A.
- Ogimoto K.; S. Imai. 1981. *Atlas of Rumen Microbiology*. Japan Scientific Press, Tokyo, Japon.
- Obispo, N.E.; B. A. Dehority. 1998. Efecto de la frecuencia de alimentación sobre el número de los hongos del rumen de ovinos (Estudio preliminar). *Zoot. Trop.* 16: 229-240.
- O'Kelly, J.C.; G. Spiers. 1991. Influence of host diet on the concentrations of fatty acids in rumen bacteria from cattle. *Aust. J. Agric. Res.* 42: 243-252.
- Oldick, B.S.; J.L. Firkins. 2000. Effects of degree of fat saturation on fiber digestion and microbial protein synthesis when diets are fed twelve times daily. *J. Anim. Sci.* 78: 2412-2420.
- Palmquist, D.L. 1988. The feeding value of fats. *In: Ørskov, ER. (Ed). Feed Science. Elsevier Sci. Publ., Amsterdam, Netherlands.* pp 293-311.
- Palmquist, D.L.; T. C. Jenkins. 1980. Fat in lactation rations: Review. *J. Dairy Sci.* 63: 1-14.
- Projan, S.J.; S. Brown-Skrobot; P.M. Schlievert. 1994. Glycerol monolaurate inhibits the production of β -lactamase, toxic shock syndrome toxin-1 and others staphylococcal exoproteins by interfering with signal transduction. *J. Bacteriol.* 176: 4204-4209.
- Řiháková, Z.; M. Plocková; V. Filip; J. Šmidrkal. 2001. Antifungal activity of lauric acid derivatives against *Aspergillus niger*. *Eur. Food Res. Tech.* 213:488-490.
- SAS Institute. 2005. SAS user guide: statistics. SAS Inst. Cary, EUA.
- Skillman, L., A. Toovey; A. Williams; A. Wright. 2006. Development and validation of a Real-Time method to quantify rumen protozoa and examination of variability between *Entodinium* populations in sheep offered a hay-based diet. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 200-206.
- Sutton, J.D.; R.H. Smith; A.B. McAllan; J.E. Storry; D.A. Corse. 1975. Effect of variations in dietary protein and of supplements of cod-liver oil on energy digestion and microbial synthesis in the rumen of sheep fed hay and concentrates. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 84: 317-326.
- Sutton, J.D.; R. Knight; A.B. McAllan; R.H. Smith. 1983. Digestion and synthesis in the rumen of sheep given diets supplemented with free and protected oils. *Br. J. Nutr.* 49:419-432.

- Ungerfeld, E.M.; S.R. Rusta; R.J. Burnetta; M.T. Yokoyama; J.K. Wang. 2005. Effects of two lipids on *in vitro* ruminal methane production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 119:179-185.
- Ushida, K.; C. Kayouli; S. Smet; JP. Jouany. 1990. Effect of defaunation on protein and fibre digestion in sheep fed on ammonia-treated straw-based diets with or without maize. *Br. J. Nutr.* 64:756-775.
- Wei-lian, H.; W. Yue-ming; L. Jian-xin; G. Yan-qiu; Y. Jun-an. 2005. Tea saponines affect *in vitro* fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *J. Zhejiang Univ. Sci.* 6:787-792.
- Williams, A.G.; S.E. Withers. 1993. Changes in the rumen microbial population and its activities during the refaunation period after the reintroduction of ciliate protozoa into the rumen of defaunated sheep. *Can. J. Microbiol.* 39:61-69.
- Williams, A.G. 1991. The biochemical activities and importance of the ciliated protozoa in the rumen ecosystem. *In: Coombs, G.H; North, M.J. (Eds). Biochemical Protozoology. Washington, EUA. pp. 61-73.*