

Efectos de la desfaunación con aceite de coco (*Cocos nucifera*) sobre el ecosistema ruminal en ovinos

María Méndez, Néstor Obispo* y Maribel Valdez

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias Apdo. de Correos 4653. Maracay 2101

RESUMEN

Para evaluar el efecto de la desfaunación ruminal con aceite de *Cocos nucifera* (AC) sobre el ambiente ruminal de ovinos, se midieron los cambios en el número de bacterias totales y celulolíticas, la digestibilidad *in situ* de la materia orgánica del forraje (DMO), concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), nitrógeno amoniacal (N-NH₃) y pH del rumen. Seis ovinos adultos de 40±3 kg, fueron fistulados, adaptados con cánula ruminal y alimentados con heno de pasto Bermuda (*Cynodon dactylon*), luego de ser asignados a un cuadrado latino (3 × 3), con tres niveles de dosificación intraruminal del AC: T1, Control, T2, + 2% AC y T₃, + 4%. Se observó efecto desfaunante (P<0,01) a ambos niveles de AC. Con el AC se lograron reducciones (P<0,01) en las poblaciones de protozoarios, lográndose incrementos (P<0,01) de la población de bacterias totales y celulolíticas de 2,7 y 1,14 veces para el 2 y 4% AC, respectivamente. La inclusión de 4% de AC redujo en 11,6% la DMO del forraje a las 48 h, con un incremento de 3 h en el tiempo medio de digestión *in situ* (11,1 vs. 14,5 h). La desfaunación incrementó (P<0,05) el acetato (61,66 vs. 63,53%) y el propionato (26,20 vs. 27,90%) con disminución (P<0,05) del butirato (12,20 vs. 8,57%), sin cambios en la relación acetato:propionato (P > 0,05). La concentración de N-NH₃ se redujo (P<0,05) en 17% en comparación con el control (115,67 vs 95,92 mg/L de contenido ruminal). Excepto por la relación acetato:propionato y el pH, la reducción de la población de protozoarios afectó los parámetros ruminales estudiados.

Palabras clave: aceite de coco, ambiente ruminal, lípidos, protozoarios, rumen.

Defaunation effect with coconut oil (*Cocos nucifera*) on sheep rumen ecosystem

ABSTRACT

To evaluate the effects of rumen defaunation with *Cocos nucifera* oil (CO) on ruminal environment of wethers, total and cellulolytic bacteria numbers, the *in situ* degradability of forage organic matter (OMD), molar proportion of the volatile fatty acids (VFA), ammonia nitrogen (N-NH₃) concentration and pH were evaluated. Six wethers, with a weight of 40(±3) kg each were fitted with a ruminal cannula and fed with Bermuda grass (*Cynodon dactylon*), were allotted to a Latin Square design (3 × 3) to three-intraruminal dosage of CO levels: T1, control without CO, T2, control + 2% AC T4 4% CO. There was a significant defaunating effect (P<0.01) for both levels of CO. Defaunation increased total and cellulolytic rumen bacteria 2.7 and 1.14 times, respectively, The inclusion of 4%. CO treatments decreased the *in situ* forage OMD at 48 h of incubation by 11.6-percentage units with 3 h increment in the average time of degradation *in situ* (11.1 vs 14.5 h). Defaunation increased (P<0.05) concentrations of acetate (61.66 vs 63.53%) and propionate (26.20 vs

*Autor de correspondencia: Nestor Obispo

E-mail: nobispo@gmail.com

27.90%), but decreased ($P < 0.05$) butyrate (12.20 vs 8.57%), without changes in the acetate:propionate ratio ($P > 0.05$). Defaunation reduced ($P < 0.05$) N-NH₃ concentration by 17% as compared with control (115.67 vs 95.92 mg/L of rumen content). Except for the acetate:propionate ratio and pH that were similar across the treatments, defaunation affected the ruminal parameters under study.

Key words: coconut oil, ruminal environment, lipids, protozoa, rumen.

INTRODUCCIÓN

La alimentación de los rumiantes en el trópico se sustenta sobre forrajes de mediana a baja calidad, y entre las alternativas para mejorar la eficiencia de transformación de éstos hacia proteínas de alto valor biológico, se ha propuesto la manipulación del ecosistema ruminal, a través de la reducción ó eliminación (desfaunación) de los protozoarios, sobre la base de que éstos ejercen una acción depredadora sobre la población de bacterias, limitando la síntesis de proteína microbiana en el rumen y su flujo al tracto posterior (Dehority, 2008).

La contribución de los cuerpos de los protozoarios como fuente de nutrientes al huésped es incierta y, considerando que ésta es muy baja en comparación con las bacterias, se especula que la eliminación de estos microorganismos podría aumentar la oferta de proteína bacteriana mejorando la relación proteína-energía de los productos absorbidos, algunas veces deprimida en las dietas con forrajes, especialmente los de mala calidad (Jouany, 1996).

La desfaunación del rumen se ha logrado a través de diversos procedimientos, los cuales por lo general implican problemas colaterales, bien porque comprometen la salud animal, su aplicación es impráctica o son muy costosos (Santra *et al.*, 1994). Algunos ácidos grasos han mostrado tener capacidad desfaunante en el rumen (Newbold y Chamberlain, 1988), aunque tradicionalmente han sido utilizados para incrementar el nivel calórico de la dieta en los rumiantes (Palmquist y Jenkins, 1980). En este sentido, el aceite de coco (*Cocos nucifera*; AC) ha sido evaluado en rumiantes como agente para disminuir las bacterias metanogénicas (archaeobacterias), entidades encargadas de producir metano en el rumen, efecto secundario a la reducción o eliminación de los protozoarios (Machmüller *et al.*, 1998; Machmüller, 2006). AC tiene un perfil lipídico compuesto por ácidos grasos de cadena media (AGCM), los cuales actúan sobre la membrana de los protozoarios, inmovilizándolos y facilitando su salida del rumen (Machmüller y Kreuzer, 1998).

El presente estudio se realizó para medir el efecto del AC sobre las poblaciones de protozoarios, bacterias totales y celulolíticas del rumen, y sobre la digestibilidad *in situ* de la materia orgánica (DMO) del forraje,

proporción de los ácidos grasos volátiles (AGV), concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) y pH ruminal en ovinos adultos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en las instalaciones de la Unidad de Ovinos del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Ceniap) ubicadas en Maracay, estado Aragua, Venezuela, a una altitud de 455 msnm, con una precipitación media anual de 969 mm, temperatura media anual de 25°C, máxima de 31,7 y mínima de 18°C, y una humedad relativa entre el 65 y 80% (Ceniap-INIA, 2012). Se utilizaron seis ovinos adultos castrados con 40,0 ± 3,0 kg de peso, de la raza West African, fistulados al rumen y adaptados con cánulas ruminales, mantenidos en corrales individuales techados y libre acceso al agua.

Los ovinos fueron alimentados *ad libitum* con heno de pasto Bermuda (*Cynodon dactylon*) cuya composición (% promedio ± DE) se indica a continuación: 11,3 ± 0,8 de proteína cruda (PC); 1,65 ± 0,4 de extracto etéreo (EE); 60,07 ± 13,2 de fibra detergente neutra (FDN); 0,57 ± 3,5 de calcio y 0,27 ± 8,1 de fósforo y suplementados *ad libitum* con sales minerales (%): calcio (15,0); fósforo (10,0); cloro (17,0); sodio (13,0); magnesio (1,0); azufre (1,0) y en ppm, zinc, (5000); manganeso (3000); hierro (1500); cobre (1250); yodo (50); cobalto (20); selenio (15) y trazas de molibdeno.

Los ovinos fueron asignados al azar a un diseño de Cuadrado Latino 3×3, a tres tratamientos de dosificación intraruminal con AC, calculadas con base en el contenido de materia seca del forraje, aplicado antes de la oferta del alimento (8:00 h). Los tratamientos fueron: T1 (Control), alimentación base con heno de *C. dactylon*, T2, + 2% AC y T3, + 4% AC.

La duración de cada periodo experimental fue de 20 días (15 de adaptación y 5 de muestreo). Entre periodos se incluyó un lapso de transición de 10 días, durante el cual todos los animales fueron refaunados por inoculación de 15 mL de contenido ruminal proveniente de animales faunados. Las muestras de contenido ruminal (aproximadamente 100 g) fueron obtenidas una hora antes de suministrar el alimento por aspiración (vía cánula) con una bomba de succión. Una alícuota

de la muestra a la cual se le agregaron 5 gotas de ácido metafosfórico para inhibir el crecimiento microbiano, y congeladas inmediatamente a -20°C hasta el momento de realizarse los análisis químicos correspondientes.

Antes de iniciar cada período experimental, se realizó una cuantificación comprobatoria previa del número de protozoarios presentes en cada una de las unidades experimentales. Todos los procesos de cuantificación de protozoarios se realizaron por la técnica descrita por Dehority (1984), a través de diluciones seriadas con una solución de formaldehído al 18,5% y solución de glicerol al 30%, hasta lograr una carga de protozoarios para garantizar una lectura de al menos 150 células en la cámara de conteo Sedgewick-Rafter. Los protozoarios fueron contados bajo el microscopio, adaptado de una cuadrícula de $0,25\text{ mm}^2$ en uno de sus oculares, a una magnificación de $100\times$.

A partir del conteo, se identificaron los géneros *Isotricha* y *Dasytricha*, así como las subfamilias Entodiniidae y Diplodiniidae, de acuerdo al protocolo de identificación propuesto por Dehority (1993). El conteo de las bacterias totales y celulolíticas se realizó de acuerdo a la metodología del número más probable (NMP) descrita por Dehority *et al.* (1989).

La DMO del forraje se realizó de acuerdo a lo propuesto por Ørskov *et al.* (1980), empleando bolsas de nylon ($5\times 10\text{ cm}$), conteniendo 2 g de heno de *C. dactylon* molido (2 mm). Se consideraron los siguientes tiempos de incubación: 0, 12, 24, 48 y 72 h. El remanente después de la incubación fue analizado para determinar el contenido de DMO (AOAC, 1980).

Con el programa NAWAY® (IFRU, Rowett Research Institute, Reino Unido), los datos de la DMO fueron ajustados a la ecuación propuesta por Ørskov y Mc Donald (1979):

$$p = a + b(1 - \exp^{-ct})$$

donde:

p = DMO a tiempo t

a = fracción soluble o rápidamente digestible

b = fracción lentamente digestible en el tiempo t

c = constante de digestibilidad de la fracción "b"

t = tiempo de incubación.

El tiempo medio de DMO se calculó de acuerdo a la ecuación propuesta por Kempton (1980):

$$T_{1/2} = \ln 2 / c$$

donde:

$\ln 2$: logaritmo natural de 2

c: constante de digestibilidad de la fracción "b".

La determinación de los AGV (acetato, propionato y butirato) se realizó mediante cromatografía de gases de acuerdo al procedimiento descrito por Erwin *et al.* (1961), en un equipo Shimadzu® modelo 5000, acoplado a un detector de masa, con una columna Supelco®, tipo Nukol.

El contenido de N-NH_3 en el rumen se determinó por colorimetría de acuerdo a lo descrito por Weatherburn (1967), donde el NH_3 presente en la muestra se hace reaccionar en presencia de fenol e hipoclorito sódico para formar indofenol, compuesto de color azul. La concentración del indofenol formado fue determinada por espectrofotometría (UV-visible) a una longitud de onda de 625 nm, contra una curva estándar de una solución de sulfato amónico 50 mM ($0,6607\text{ (NH}_4)_2\text{SO}_4\text{ g/100 mL}$ de agua destilada). El pH fue medido directamente del rumen, mediante la introducción de una cánula con un electrodo portátil (Orion® 261S Basic).

En general, los resultados fueron analizados por el análisis de la varianza, a través del PROC MIXED del programa SAS (SAS, 2002). Los efectos fijos del análisis para el PROC MIXED fueron los correspondientes a tratamiento, período y secuencia, y como factor aleatorio se consideró el efecto del animal anidado en la secuencia. Las medias, ajustadas a sus mínimos cuadrados se separaron por la prueba de Tukey, con la significancia establecida a ($P < 0,05$).

El análisis se correspondió con el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + p_j + \text{sec}_k + \varepsilon_{ijk}$$

donde:

Y_{ijk} es la lectura del i -ésimo tratamiento en el j -ésimo período y en la k -ésima secuencia

μ = promedio poblacional de la variable respuesta

t_i = efecto del i -ésimo tratamiento, con $i = 1, 2, \dots, 3$ (T1, T2, T3)

p_j = efecto del j -ésimo período $j = 1, 2, \dots, 3$

sec_k = efecto de la k -ésima secuencia, con $k = 1, 2, \dots, 3$ (T1T2T3, T2T3T1, T3T1T2)

ε_{ijk} = es el error asociado con la lectura del i -ésimo tratamiento en el j -ésimo período y en la k -ésima sec.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evidenció una disminución ($P < 0,01$) del 99,9% de los protozoarios en los tratamientos con AC respecto al control, con la mayor reducción ($P < 0,01$) para la dosis superior de AC (Cuadro 1). Estos resultados muestran estrecha relación con los datos señalados por las investigaciones de Machmüller *et al.* (1998), Cieślak *et al.* (2006) y Jordan *et al.* (2006) quienes observaron una reducción significativa de la población de protozoarios en el rumen cuando usaron AC tratando de disminuir la población de metanogénicos, expresando el potencial de éste aceite como desfaunante. El número de bacterias totales y celulolíticas resultaron mayores ($P < 0,01$) en los tratamientos con AC en comparación con el tratamiento Control (Cuadro 1).

En presencia de los AGCM del AC se afecta la actividad de los protozoarios, los cuales cesan su actividad y mueren para luego ser arrastrados progresivamente fuera del rumen (Lovett *et al.*, 2003). La eliminación o disminución del número de los protozoarios del rumen guarda relación con los aumentos en el número estimado de bacterias totales y celulolíticas, dado que los protozoarios se alimentan de estos organismos. El efecto depredador de los protozoarios sobre las bacterias del rumen ha sido demostrado en animales que permanecieron aislados, libres de protozoarios desde su nacimiento (Belanche *et al.*, 2007).

La acción depredadora de los protozoarios provoca un proceso de recambio total de la biomasa bacteriana total (Jouany, 1996). El incremento en la población bacteriana podría explicarse desde el ángulo de la sustitución del nicho dejado por los protozoarios del rumen (Palmquist y Jenkins, 1980; Jouany, 1996), por lo que la productividad mejorará, principalmente cuando el contenido proteico de la dieta sea bajo (Bird, 1989).

El efecto desfaunante sobre el número de bacterias ruminales amilolíticas y pectinolíticas es más marcado en dietas concentradas, en las cuales la población de

protozoarios tiende a ser más alta que en dietas basadas en forraje, y donde la depredación y competitividad entre los microorganismos por los sustratos es mayor (Sodiy *et al.*, 2004; Cieślak *et al.*, 2006). En experimentos donde sólo se suministró alimento concentrado, Nagaraja *et al.* (1992) observaron incrementos de hasta cuatro veces en el número de bacterias en ausencia de los protozoarios. En el caso de este experimento, sobre una dieta base de *C. dactylon*, se observaron incrementos de 2,7 y 1,14 veces para bacterias totales y celulolíticas, respectivamente.

Los niveles de AC afectaron de modo diferencial los distintos grupos de protozoarios (Cuadro 2), siendo los entodínios los más numerosos en todos los tratamientos, grupo que suele tener una mejor capacidad de adaptación a las variables condiciones ambientales del rumen (Williams y Coleman, 1997).

La inclusión de un 4% de AC disminuyó ($P < 0,05$) la DMO a las 48 h, tal como se muestra en Cuadro 3. La dosis de 2% de AC no afectó este parámetro al compararlo con el control o con la mayor dosis de AC. La fracción soluble (a) se vio afectada ($P < 0,05$) en los tratamientos con AC con valores tendiendo a disminuir con el nivel de inclusión. Los valores de la fracción insoluble potencialmente digestible (b) fueron similares. El AC afectó ($P < 0,05$) la tasa de digestibilidad, siendo mayor para el T1, lo que se reflejó en los mayores $T_{1/2}$ ($P < 0,05$) que mostraron los tratamientos con AC.

Los lípidos de origen animal y vegetal deprimen la digestibilidad de la fibra a nivel ruminal y en el tracto digestivo total (Ferlay y Doreau, 1992). Sin embargo, el grado de depresión varía de acuerdo a la naturaleza y cantidad del lípido, la especie animal y a las condiciones experimentales. En contraste con la digestibilidad de la fibra, que es afectada por los lípidos en el rumen, aparentemente se afecta muy poco la del almidón o de los carbohidratos solubles (Tamminga *et al.*, 1983).

Los resultados de investigaciones con ovejos desfaunados, los cuales fueron inoculados con determinadas especies de protozoarios, solas o en grupos, y donde se

Cuadro 1. Efecto del nivel de aceite de coco (AC) sobre el número de protozoarios, bacterias totales y celulolíticas del rumen.

Microorganismo	Tratamiento [†]		
	T1	T2	T3
Protozoarios ($N^{\circ} \times 10^2$ /mL cont. ruminal)	3820 _a ‡	16 _b	0,07 _c
Bacterias			
Totales ($N^{\circ} \times 10^9$ /g cont. ruminal)	3,23 _b	8,16 _a	9,08 _a
Celulolíticas ($N^{\circ} \times 10^7$ /g cont. ruminal)	2,03 _b	2,38 _a	2,25 _a

[†] Tratamientos: T1= 0% AC; T2= 2% AC; T3= 4% AC

[‡] Promedios con letras distintas en la misma fila son diferentes ($P < 0,01$).

Cuadro 2. Efecto del nivel de aceite de coco (AC) sobre el número de tres grupos diferentes de protozoarios ruminales.

Tratamiento†	Holotricos	Entodinos		Diplodinos
		----- N° x 10 ² /mL de contenido ruminal ---		
T1	80a‡	1360a	190a	
T2	0,04b	1,4b	0,08b	
T3	0,02c	0,6c	0,04c	

† Tratamiento: T1= Control; T2= 2% AC; T3= 4% AC

‡ Promedios con letras distintas en la misma columna son diferentes (P<0,01).

evaluó la digestibilidad de los componentes de la pared celular vegetal, señalan que se mejora la digestión de la fracción lignocelulósica más que la fibra total, lo cual indica una mayor acción de estos organismos sobre la celulosa (Jouany *et al.*, 1995). La DMO no fue afectada por el AC, cuando la dosis utilizada fue de 0, 3,5 y 7%; sin embargo, estos autores también mostraron evidencias que la digestibilidad ruminal de la celulosa y hemicelulosa fue suprimida completamente con este aceite, lo que se atribuyó a una disminución en el número de bacterias celulolíticas (Machmüller y Kreuzer, 1998). Sin embargo, dado que los protozoarios también digieren componentes estructurales del forraje, parte de esta disminución en la DMO pudiera ser asociada a la desfaunación (Jouany, 1996).

Camacho *et al.* (2006) suplementó ovinos con 0, 4, 8 y 12% de aceite de maíz para evaluar la digestibilidad ruminal de la materia orgánica y observaron que la mejor digestibilidad resultó para el tratamiento sin aceite. Jordan *et al.* (2004) utilizando AC y harina de copra como alternativa para mejorar la eficiencia de las funciones del rumen en ganado bovino, indicaron que la digestibilidad de la fibra no es afectada cuando se calcula la ración para contener el AC a una concentración de 2,7% de la materia seca del alimento. Cuando el nivel de AC fue suministrado por encima de esta estimación, en la forma de harina de copra, la digestibilidad disminuyó (Jordan *et al.*, 2006).

El AC no produjo una variación en la concentración molar de AGV en relación al control (Cuadro 4); sin embargo, la proporción del butirato se incrementó en el T2 con valores menores en T3, en comparación con el control (P<0,05). Se incrementó significativamente el propionato, sin cambios en la relación acetato:propionato dado que ocurrieron incrementos, igualmente significativos, en la proporción de acetato.

Los trabajos realizados por Eadie *et al.* (1970) indican que los animales desfaunados tienden a incrementar los AGV totales, asociado a un incremento en el número de total de las bacterias. Estos autores concluyeron que altas proporciones de butirato estaban asociadas a la presencia de los protozoarios.

En investigaciones donde la relación forraje:concentrado fue de 1:1 y se utilizaron como agentes desfaunantes el AC refinado y la harina de copra, Jordan *et al.* (2006) observaron una disminución en la concentración molar total de los AGV, sin que se hubiese afectado las proporciones molares de cada uno de ellos. Este resultado fue atribuido a una posible disminución en la disponibilidad de hidrógeno en el ecosistema ruminal, al estar reducida la población de protozoarios, los cuales son generadores de este gas durante sus procesos fermentativos (Santra *et al.*, 1996).

Los rangos porcentuales de la proporción molar de AGV en una dieta a base de forraje oscilan entre 60-75, 15-23 y 7-16% para acetato, propionato y butirato,

Cuadro 3. Digestibilidad *in situ* de la materia orgánica del heno de Bermuda (*Cynodon dactylon*) a las 48 h, en el rumen de ovinos tratados con aceite de coco (AC).

Tratamiento†	Digestibilidad (%)	Constantes‡			T ^{1/2} (h)
		a	b	c	
T1	60,5a§	5,1 _a	58,4	0,06 _a	11,1 _b
T2	55,5 _{ab}	4,4 _b	56,0	0,05 _b	14,6 _a
T3	48,9 _b	4,5 _{bc}	49,1	0,05 _b	14,4 _a

† Tratamiento: T1= 0% AC; T2= 2% AC; T3= 4% AC

‡ Constantes: a, intercepto a tiempo cero (%); b, material potencialmente digestible (%) y c tasa de digestibilidad (%/h); T^{1/2}, tiempo en que la mitad de la DMO es digerida

§ Promedios con letras distintas en la misma columnas son diferentes (P<0,05).

Cuadro 4. Efecto de la dosis de aceite de coco (AC) sobre la concentración (mM/100 mL) y proporción (%) molar de acetato, propionato y butirato en el rumen.

AGV	Tratamiento†		
	T1	T2	T3
Conc. Molar (Ac + Pr + Bu)	12,41	12,90	12,80
	----- % -----		
Acetato	61,6b‡	63,2 _a	63,9 _a
Propionato	26,2 _b	27,3 _{ab}	28,4 _a
Butirato	12,2 _b	19,5 _a	7,7 _c
Ac:Pr§	2,37 ± 0,07	2,32 ± 0,10	2,25 ± 0,05

† Tratamiento: T1 = 0% AC; T2 = 2% AC; T3 = 4% AC

‡ Promedios con distintas letras en la misma fila son diferentes ($P < 0,05$).

§ Media ± error estándar

respectivamente (Thomas y Rook, 1977). Muchos de los experimentos donde se han evaluado estos perfiles de AGV con animales desfaunados, señalan que ocurre un incremento en la concentración del propionato, efecto observado en esta investigación, lo cual ha sido considerado que ocurre a expensas del acetato y butirato (Mendoza *et al.*, 1993), aunque también se observó un incremento significativo del acetato.

La concentración del N-NH₃ (Cuadro 5) disminuyó significativamente ($P < 0,05$) con la inclusión de AC intraruminal. Para este parámetro hubo una reducción porcentual promedio del 17,1%, en los ovinos tratados con AC en relación al control.

Esta reducción en la concentración de N-NH₃, era de esperarse, dada la disminución de la acción depredadora de los protozoarios (Sodiy *et al.*, 2004), que se manifiesta en un mayor reciclaje del N en el rumen por la degradación de la proteína de la dieta y microbiana (Jouany, 1994). Esta respuesta confirma las razones por las cuales se ha venido proponiendo la práctica de la desfaunación como alternativa para mejorar la eficiencia de utilización del N en los rumiantes (Jouany, 1996).

La concentración de N-NH₃ en respuesta a la desfaunación guarda relación con la disminución de

la proteólisis bacteriana, por lo que se ha sugerido que habría que suplementarse con fuentes de nitrógeno no proteico para el mantenimiento de la actividad fibrolítica de las bacterias celulolíticas (Santra y Karim, 2002).

La concentración requerida de N-NH₃ para la tasa máxima de crecimiento de las bacterias ruminales y para la síntesis de proteína microbiana giran en torno a valores comprendidos entre 5 y 23 mg N-NH₃/dL (Satter y Slyter, 1974); estimándose que cantidades superiores a las mencionadas conducen a la acumulación de N-NH₃, estimulando en reciclaje del mismo. Osakwea y Drochner (2006) señalan que este rango de valores promueve el paso de una mayor cantidad de proteína inalterada hacia el intestino delgado.

El pH del contenido ruminal (Cuadro 5) no fue afectado por la desfaunación, observándose un valor promedio de 6,5, el cual se corresponde con el pH ruminal de animales alimentados con dietas con altas proporciones de forrajes (Jalč *et al.*, 2006), y son coincidentes con los encontrados por Navas-Camacho *et al.* (1997) y Abreu *et al.* (2003), al igual que en experimentos con diferentes dietas a base de pasto, concentrado o sus combinaciones, donde se utilizaron lípidos y suplementos amonificantes (Zain *et al.*, 2008). Este pH resulta beneficioso al ecosistema ruminal, tanto para la síntesis de proteína microbiana como en la eficiencia fermentativa (Piwonka *et al.*, 1994).

CONCLUSIONES

En este estudio, el aceite de coco resultó un agente desfaunante eficiente con reducción de la población de protozoarios hasta un 99,9%. La desfaunación incrementó las poblaciones bacterianas totales y celulolíticas, con cambios en la proporción de los ácidos grasos volátiles y sin variaciones en la relación de los ácidos acético: propiónico. La disminución en la concentración ruminal del N-NH₃ fue un reflejo de la baja tasa de reciclaje del nitrógeno por la poca

Cuadro 5. Concentración de N-NH₃ y pH del contenido ruminal de ovinos alimentados con heno de Bermuda (*Cynodon dactylon*) suplementados con aceite de coco.

Tratamiento†	N-NH ₃ (mg/L)	pH
T1	115,67a‡	6,52
T2	95,17b	6,63
T3	96,67b	6,37

† Tratamiento: T1 = 0% AC ; T2 = 2% AC ; T3 = 4% AC

‡ Promedios con letras distintas en la misma columna son diferentes ($P < 0,05$).

degradación bacteriana, lo que cursa sin variaciones en el pH del contenido ruminal. De acuerdo a los resultados, el aceite de coco administrado a los niveles de 2 y 4% del contenido de la materia seca del alimento ofrecido afecta la digestibilidad de la materia orgánica del forraje.

AGRADECIMIENTO

Al apoyo logístico e institucional del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) y al FONACIT por el financiamiento otorgado a través del Proyecto-Convenio BID-FONACIT II No. 2004000383.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, A.; J. E. Carulla; M. Kreuzer; C.E. Lascano; T.E. Díaz; A. Cano; H.D. Hess. 2003. Efecto del fruto, del pericarpio y del extracto semipurificado de saponinas de *Sapindus saponaria* sobre la fermentación ruminal y la metanogénesis *in vitro* en un sistema RUSITEC. Rev. Col. Cienc. Pec. 16: 147-154.
- AOAC. 1980. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural chemists. In Horwitz, W. (Ed.) 13^{ra} ed. Association of Official Chemists, Washington, EUA.
- 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.
- Bird, S.H. 1989. Production from ciliate-free ruminants. In Nolan, J.V.; R.A. Leng; D.I. Demeyer (Eds.) The Role of Protozoa and Fungi in Ruminant Digestion. Penambul Books, Armidale. Australia. pp. 233-246.
- Camacho, J.; J. Quintal; G. Williams; R. Quijano; J. Ku. 2006. Dry matter, rumen fermentation and microbial nitrogen supply in pelibuey sheep fed low-quality rations and different levels of corn oil. Interciencia 31: 525-529.
- CENIAP-INIA. 2012. Históricos del Ceniap 1998-2102. Disponible en: http://agrometeorologia.inia.gob.ve/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=248&Itemid=31 [Consultado: 23 abril 2012].
- Cieślak, A.; M. Szumacher-Strabel; E. Szymankiewicz; M. Piękniewski; P. Oleszak; L. Siwiński; A. Potkański. 2006. Coconut oil reduces protozoa count and methane release during fermentation in a Rusitec system. J. Anim. Feed Sci. 15:19-22.
- Dehority, B. 1984. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. Appl. Environ. Microbiol. 48: 182-185.
- Dehority, B.A. 1993. Laboratory Manual for Classification and Morphology of Rumen Ciliate Protozoa. CRC Press. Boca Raton, EUA. 120 pp.
- Dehority, B.A. 2008. Improved *in vitro* procedure for maintaining stock cultures of three genera of rumen protozoa. J. Anim. Sci. 86: 1395-1401.
- Dehority, B.A.; P. Tirabasso; A. Grifo. 1989. Most-Probable-Number procedures for enumerating ruminal bacteria, including the simultaneous estimation of total and cellulolytic numbers in one medium. Appl. Environ. Microbiol. 55: 2789-2792.
- Eadie, J.; J. Hyldgaard-Jensen; S.O. Mann; R.S. Reid; F.G. Whitelaw. 1970. Observations on the microbiology and biochemistry of the rumen in cattle given different quantities of a pelleted barley ration. Br. J. Nutr. 24: 157-177.
- Erwin, E. S.; G.J. Marco; E.M. Emery. 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. J. Dairy Sci. 44: 1768-1771.
- Ferlay, A.; M. Doreau. 1992. Influence of method of administration of rapeseed oil in dairy cows. 1. Digestion of non lipid components. J. Dairy Sci. 75: 3020-3027.
- Jalč, D.; A. Potkański; M. Szumacher-Strabel; J. Kowalczyk; A. Cieślak. 2006. The effect of a high forage diet and different fat sources on rumen fermentation *in vitro*. J. Anim. Feed Sci. 15: 133-136.
- Jordan, E.; D. Lovett; M. Hawkins; F. O'Mara. 2004. The effect of varying levels of coconut oil on methane output from continental cross beef heifers. Proc. Int. Conf. Greenhouse Gas Emissions Agr. Mit. Opt. Strat. Leipzig, Alemania. pp. 124-130.
- Jordan, E.; D. Lovett; F. Monahan; J. Callan; B. Flynn; F. O'Mara. 2006. Effect of refined coconut oil or copra meal on methane output and on intake and performance of beef heifers. J. Anim. Sci. 84: 162-170.

- Jouany, J.P. 1994. Manipulation of microbial activity in the rumen. *J. Arch. Anim. Nutr.* 46: 133-153.
- Jouany, J.P. 1996. Effect of protozoa on nitrogen utilization in ruminants. *J. Nutr.* 126: 1335S-1346S.
- Jouany, J.; J. Sénaud; S. Toillon; M. Ben Salah; J. Bohatier; G. Prensier. 1995. Effect of ruminal inoculation of *Isotricha* alone or a mixed B-type fauna in a defaunated rumen on the digestion of a hay-maize diet (70:30) in sheep. *Reprod. Nutr. Dev.* 35: 11-25.
- Kempton, T. 1980. El uso de las bolsas de nylon para caracterizar el potencial de la degradabilidad de los alimentos para el rumiante. *Prod. Anim. Trop.* 5: 115-126.
- Lovett, D.; S. Lovell; L. Stack; J. Callan; M. Finlay; J. 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. *Livest. 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.
- Mendoza, G.; R. Britton; R. Stock. 1993. Influence of ruminal protozoa on site and extent of starch digestion and ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.* 71: 1572-1578.
- Nagaraja, T.G.; G. Towne; A.A. Beharka. 1992. Moderation of ruminal fermentation by ciliated protozoa in cattle fed a high-grain diet. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 2410-2414.
- Navas-Camacho, A.; J.E. Cortés-Cortés; E.A. Gutiérrez-Mindiola. 1997. Efecto de la reducción de la población de protozoarios sobre el funcionamiento ruminal en ovinos alimentados con tamo de trigo. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 5: 98-101.
- Newbold, C.J.; D.G. Chamberlain. 1988. Lipids as rumen-defaunating agents. *Proc. Nutr. Soc.* 43:154A.
- Ørskov, E.R.; F.D. Hovell; F. Mould. 1980. Uso de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos. *Prod. Anim. Trop.* 5: 213-233.
- Ørskov, E.R.; I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci.* 92: 499-503.
- Osakwea, I.I.; W. Drochner. 2006. Nutritive value of *Morinda lucida* and its fermentation parameters in West African dwarf (WAD) sheep when fed as supplement to grass hay. *Small Rumin. Res.* 64: 107-115.
- Palmquist, D.L.; T.C. Jenkins. 1980. Fat in lactation rations: Review. *J. Dairy Sci.* 63: 1-14.
- Piwonka, E.J.; J.L. Firkins; B.L. Hull. 1994. Digestion in the rumen and total tract of forage-based diets with starch or dextrose supplements fed to Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 77: 1570-1579.
- Santra, A.; S.A. Karim. 2002. Nutrient utilization and growth performance of defaunated and faunated lambs maintained on complete diets containing varying proportion of roughage and concentrate. *Anim. Feed Sci. Technol.* 101: 87-99.
- Santra, A.; D.N. Kamra; N.N. Pathak. 1994. Effect of defaunation on nutrient y growth of murrh buffalo (*Bubalus bubalis*) calves. *Inter. J. Anim. Sci.* 9: 185-187.
- Santra, A.; D.N. Kamra; N.N. Pathak. 1996. Influence of ciliate protozoa on biochemical changes and hydrolytic enzymes in the rumen of Murrh buffalo (*Bubalus bubalis*). *Buff. J.* 1: 95-100.
- SAS. 2002. SAS/STAT User's Guide. Ver 9.0. SAS Institute Inc. Cary, EUA.
- Satter, L.D.; L.L. Slyter. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. *Br. J. Nutr.* 32: 199-208.
- Sodiy, D.; R. González Martínez; S. Martínez Rangel. 2004. Efectos de la desfaunación sobre la fermentación. *Sitio Arg. Prod. Animal.* Disponible en: http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/manejo_del_alimento/11-efectos_defaunacion_sobre_la_fermentacion.pdf. [Consultado: 02 noviembre 2008].

- Tamminga, S.; A.M. Van Vuuren; C.J. Van der Koelen; H.N. Khattab; L.G.M. Van Gils. 1983. Further studies on the effect of fat supplementation of concentrates fed to lactating and site of digestion of dietary components. *Neth. J. Agric. Sci.* 31: 249-258.
- Thomas, P.C.; J.A.F. Rook. 1977. Manipulation of rumen fermentation. *In* W. Haresign; D. Lewis (Eds) *Recent Advances in Animal Nutrition*. Butterworths, Londres. pp. 83-109.
- Weatherburn, M. 1967. Phenol-hypoclorite reaction for determination of ammonia. *Anal. Chem.* 39: 971-974.
- Williams, A. G.; G.S. Coleman. 1997. The rumen protozoa. *In* Hobson, P.N.; Stewart, C.S (Eds) *The Rumen Microbial Ecosystem*. Blackie Academic & Professional, Londres. pp. 73-139.
- Zain, M.; T. Sutardi; Suryahadi; N. Ramli. 2008. Effect of defaunation and supplementation methionine hydroxy analogue and branched chain amino acid in growing sheep diet based on palm press fiber ammoniated. *Pakistan J. Nutr.* 7: 813-816.