

PRODUCCIÓN DE GAS *in vitro* DE ANTIHELMÍNTICOS NATURALES PARA RUMIANTES¹²

[*In vitro* GAS PRODUCTION OF NATURAL ANTIHELMINTIC FOR RUMINANTS]

**Pablo Benjamín Razo-Ortíz¹, Pedro Abel Hernández-García^{2§}, José Antonio Martínez-García³,
Gabriela Vázquez-Silva⁴, Germán David Mendoza-Martínez³, Cesar Diaz-Galván¹**

¹Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, Ciudad de México. ²Centro Universitario UAEM Amecameca. Universidad Autónoma del Estado de México, Amecameca, Estado de México. ³Departamento de Producción Agrícola y Animal. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, Ciudad de México. ⁴Departamento de El Hombre y su Ambiente. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, Ciudad de México.

§Autor para correspondencia: (pedro_abel@yahoo.com).

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar los valores de fermentación ruminal *in vitro* de cebolla y tequesquite. El proceso *in vitro* se realizó en frascos con 0.5 g de cebolla (*Allium cepa*) o tequesquite y 90 mL del inoculo ruminal estandarizado. Se utilizaron cuatro frascos por cada uno de los dos tratamientos y cuatro frascos como blanco. Se tomaron las lecturas de presión y de gas a 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 60 y 72 h midiendo en cada fracción de tiempo Volumen máximo de gas, tasa de producción de gas, fase *Lag* y se determinó la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS). Los datos se analizaron mediante un diseño completamente al azar. Se encontró diferencia significativa ($p=0.0003$) en Vol máx y fase *Lag* ($p=0.0012$) para las incubaciones con cebolla. La DIVMS mostró diferencia estadística ($p=0.0004$), siendo elevada para la cebolla (89.9%). Por su parte, el tequesquite mostró valores negativos en Vol max (-3.64), nula tasa de producción de gas (0.069) y una fase *Lag* de 39 h, lo que sugiere que el tequesquite afectó de forma negativa las bacterias ruminales. Por lo cual, se concluye que la cebolla es una alternativa viable para evaluar su efecto como desparasitante en rumiantes.

Palabras clave: Desparasitantes, fitobióticos, rumiantes.

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the *in vitro* ruminal fermentation values of onion and tequesquite. The *in vitro* process was made in flasks with 0.5 g of onion (*Allium cepa*) or tequesquite and 90 mL of standardized ruminal inoculum. Four flasks were used per treatment and 4 flasks were used as blank. Pressure and gas readings were taken at 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 60 and 72 h measuring at each time fraction Vol max, S, *Lag* phase and DIVMS was determined. Data were analyzed using a completely randomized design. A significant difference ($p=0.0003$) was found in Vol max and *Lag* phase ($p=0.0012$) for incubations with onion. The DIVMS showed statistical difference ($p=0.0004$) being high for the onion (89.9%). For its part, tequesquite showed negative values in Vol max (-3.64), zero gas production rate (0.069) and a *Lag* phase of 39 h, which suggests that tequesquite negatively affected ruminal bacteria. Therefore, it is concluded that onion is a viable alternative to evaluate its an anthelmintic in ruminants.

Index words: Deworming, photobiotic, ruminants.

..

¹² Recibido: 11 de junio de 2021

Aceptado: 22 de noviembre de 2021

INTRODUCCIÓN

La ganadería en pastoreo está limitada por rumiantes con pobre genética productiva, nutrición deficiente y problemas parasitarios que afectan de forma principal a animales de sistemas productivos donde las condiciones ambientales predisponen al crecimiento de parásitos (López-Ruvalcaba *et al.*, 2013). Los animales que se encuentran parasitados obtienen menores rendimientos productivos y son un riesgo de salud pública (López-Ruvalcaba *et al.*, 2013). La manera usual de controlar la parasitosis intestinal es medicando a los corderos con antihelmínticos químicos (febendazol, albendazol) los cuales, son criticados por la generación de resistencia cruzada al ser utilizados de forma indiscriminada aplicando dosis equivocadas y en frecuencias excesivas (Alowanou *et al.*, 2020).

El manejo nutricional de los corderos podría tener beneficios en las parasitosis si se administran en las raciones compuestos naturales que por sus fitobióticos puedan mejorar el crecimiento, sistema inmunológico y disminuir el nivel de parasitosis. El uso de plantas con fin medicinal se ha realizado a lo largo de la historia de la humanidad y existen reportes donde se menciona que la cebolla (*Allium cepa*) muestra propiedades antihelmínticas (Fajimi y Taiwo, 2005). La cebolla ha mostrado un efecto desparasitante *in vitro* por los taninos presentes en su estructura química (Abdel-Ghaffar *et al.*, 2011), sin embargo, es importante determinar qué efectos puede tener en la fermentación ruminal para determinar si su implementación en corderos es viable.

Otros compuestos presentes en la estructura química de las plantas son los alcaloides los cuales, pueden funcionar como una defensa de la planta contra insectos por lo cual, se ha investigado su potencial desparasitante. Por su estructura química, algunos alcaloides pueden formar sales si se juntan con ácidos orgánicos principalmente imidazoles que tiene efecto antifúngico y desparasitante y sobre todo minerales (Berdonces, 1994; Sifuentes-Penagos *et al.*, 2015). El tequesquite es una sal mineral proveniente de la evaporación de lagos salinos (pH<10) con altas concentraciones de carbonato de sodio, en México se utiliza de forma principal en la gastronomía, pero por sus características químicas podría tener un uso desparasitante (Flores y Martínez, 2016). El objetivo de esta investigación fue evaluar la adición de cebolla y tequesquite en una fermentación ruminal *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en las instalaciones del Laboratorio Multidisciplinario de Investigación del Centro Universitario UAEM Amecameca, de la Universidad Autónoma del Estado de México. Los tratamientos fueron la adición de cebolla y tequesquite previamente secados en estufa (60 °C durante 24 h) a los frascos con inóculo ruminal. Para realizar la producción de gas *in vitro* se obtuvo líquido ruminal de dos bovinos canulados en rumen raza Holstein de 400 kg de peso, cuya dieta comprendía forraje verde de maíz (50%) y concentrado (50%). Se extrajeron 1500 mL de líquido ruminal que se colocó en un termo para evitar enfriamiento y se llevó al laboratorio de investigación donde fue filtrado con tres capas de tela gasa, protegido de la luz a 39 °C y saturado con dióxido de carbono (CO₂) para mantener las condiciones de anaerobiosis. Posteriormente fue adicionado en relación 1:9 a una solución mineral estandarizada que fue preparada como describen Ferraro *et al.* (2009).

Para las incubaciones *in vitro* se utilizaron dos tratamientos que contenían 0.5 gr de cebolla o 0.5 gr de tequesquite como sustrato y se colocaron en frascos ámbar de 120 mL de capacidad a los cuales se adicionaron 90 mL de líquido ruminal estandarizado con flujo continuo CO₂. Se emplearon cuatro frascos por tratamiento (2 tratamientos) y cuatro frascos blancos que solo contenían inóculo ruminal y fueron restados para ajustar los valores de las medias. Los frascos se colocaron en baño maría a 39 °C y se midió la presión de gas a las 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 60 y 72 h con un manómetro digital (Theodorou *et al.*, 1994). La determinación de digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) se realizó mediante el filtrado del

contenido de los frascos a través de papel filtro Whatman 541 (MOD. 617 código P.V.NO.1034), previamente secado en estufa (55 °C por 24 h) con una bomba de vacío.

El experimento se realizó dos veces. En cada fracción de tiempo se midieron tres parámetros de cinética de producción de gas los cuales fueron; fase *lag* (h), volumen máximo (V_{max}) y la tasa de producción de gas (S) utilizando el modelo $V_0 = V_m / (1 + e^{(2-4 * s * t + (tL))})$ propuesto por (Menke y Steingass, 1988), donde V =volumen, s =tasa de producción de gas, t =tiempo y L =fase *Lag*.

Para el análisis estadístico, la producción total de gas, tasa de producción de gas, fase *Lag* y la desaparición *in vitro* de la materia seca se analizaron utilizando un análisis de varianza mediante un diseño completamente al azar con un nivel de significancia de $p < 0.05$ (Sall *et al.*, 2012), y la comparación de medias se realizó utilizando la prueba de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de las incubaciones *in vitro* con cebolla y tequesquite se muestran en el cuadro 1. Se encontró diferencia estadística ($p=0.0003$) en volumen máximo de gas observándose mayor volumen con la fermentación de la cebolla. Patra *et al.* (2006) y Yang *et al.* (2012) encontraron un volumen máximo de gas similar al reportado en esta investigación (224 mL y 229.4 mL, respectivamente). En algunas investigaciones se ha reportado disminución en el total de ácidos grasos volátiles, pero incrementos en la relación acético:propiónico cuando se realizan fermentaciones ruminales *in vitro* con cebolla (Yang *et al.*, 2012). Este efecto en el incremento de propionato ruminal podría ser explicado por la actividad antimicrobiana contra bacterias gran positivas por parte de los terpenoides y compuestos fenólicos presentes en la cebolla (Wanapat *et al.*, 2008). Estos terpenos y fenoles presentes en la cebolla tienen un efecto antihelmíntico y antioxidante importante que podría contribuir a mejorar el comportamiento productivo de rumiantes (Barakade y Lokhande, 2011).

De forma contraria el tequesquite mostró nula producción de gas. No existe información científica que describa el comportamiento del tequesquite en una fermentación ruminal *in vitro* sin embargo, una hipótesis que podría explicar el bajo nivel de gas al utilizar tequesquite como sustrato es por sus características alcalinas (Flores y Martínez, 2016); por las cuales, la fermentación ruminal sufrió una modificación importante disminuyendo la actividad de las bacterias presentes en el inóculo ruminal. Este comportamiento *in vitro* sugiere que el tequesquite podría tener efectos negativos en los rumiantes que lo consuman al alterar de forma negativa la fermentación ruminal. Flores y Martínez (2016), reportaron la composición química del tequesquite no encontrándose sustrato (carbohidratos, proteínas, lípidos) en el que puedan actuar las enzimas bacterianas y producir la energía necesaria para su metabolismo lo cual, también podría explicar la nula producción de gas en la fermentación.

La fase *Lag* mostró una diferencia significativa, siendo negativa con la inclusión de cebolla lo cual, conllevaría a una rápida adherencia de las bacterias. Marino *et al.* (2010) no encontraron fase *Lag* al evaluar la cebolla en una fermentación ruminal *in vitro*, reportando a este vegetal con altos aportes de energía metabolizable y degradabilidad. Por su parte, el tequesquite reporta una fase *Lag* muy retardada que explicaría un efecto negativo en la adherencia de las bacterias y el nulo mantenimiento del proceso fermentativo.

Los valores de desaparición *in vitro* de la materia seca fueron significativos ($p=0.0004$) siendo elevados para la cebolla (89.9%). Valores de digestibilidad *in vitro* de la cebolla cercanos a 80% han sido reportados por otros investigadores (Marino *et al.*, 2010). Por su parte el porcentaje de desaparición de materia seca del tequesquite pudiera ser atribuido a la solubilidad de la sal en el medio ruminal y no a una acción fermentativa ya que, no hay datos de fase *Lag* y volumen máximo de gas que pudieran evidenciar un efecto de las bacterias en el medio (Cuadro 1).

Cuadro 1. Producción de gas *in vitro* de antihelmínticos naturales para rumiantes

	Cebolla	Tequesquite	EE	P
Vol max, mL	211.67 ^a	-3.64 ^b	12.7445	0.0003
S, %/h	0.050	0.069	0.0271	0.6442
Lag, h	-0.40 ^a	39.69 ^b	3.4844	0.0012
DIVMS, %	89.97 ^a	59.34 ^b	0.6810	0.0004

Vol max: Producción máxima de gas (mL), S: máxima tasa de producción de gas (h⁻¹), que se presenta en el punto de inflexión de la curva; L: fase Lag (h), definido como el intercepto del eje tiempo de la línea de la tangente en el punto de inflexión; DIVMS: degradabilidad de la materia seca (%); EE= error estándar de la media; (^{abcd}) medias con diferente superíndice dentro de la fila difieren (p<0.05).

CONCLUSIÓN

Los datos de fermentación *in vitro* de cebolla sugieren que su uso como desparasitante en rumiantes es viable al no reportarse alteraciones en las variables de producción de gas *in vitro*.

LITERATURA CITADA

- Abdel-Ghaffar, F., M. Semmler, K.A. Al-Rasheid, B. Strassen, K. Fischer, G. Aksu and H. Mehlhorn. 2011. The effects of different plant extracts on intestinal cestodes and on trematodes. *Parasitology research* 108(4): 979-984.
- Alowanou, G.G., E.V. Azando, A.D. Adenilé, D.O. Koudandé, C.A. Chrysostome and S.M. Hounzangbé-Adoté. 2020. Evaluation of the *in vivo* anthelmintic properties of *Mitragyna inermis* (Willd.) as a livestock dewormer against parasitic hematophagous worm *Haemonchus contortus* infections in different breeds of lambs. *Tropical Animal Health and Production* 52(1): 309-319.
- Barakade, A.J. and T.N. Lokhande. 2011. Medicinal uses of onion: an important vegetable crop in India. *Vision Research* 1:68-76.
- Berdonces, J.L. 1994. Principios activos y preparaciones farmacéuticas de las plantas medicinales. *Natura Medicatrix: Revista médica para el estudio y difusión de las medicinas alternativas* (37): 42-48.
- Fajimi, A.K. and A.A. Taiwo. 2005. Herbal remedies in animal parasitic diseases in Nigeria: a review. *African journal of biotechnology* 4(4): 303-307.
- Ferraro, S.M., G.D. Mendoza, L.A. Miranda and C.G. Gutierrez. 2009. *In vitro* gas production and ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses. *Animal Feed Science and Technology* 154(1-2): 112-118.
- Flores, H.D. and J.F. Martínez. 2016. Detailed chemical composition of tequesquite, a pre-hispanic and traditional mineral resource used in Mexico for culinary purposes. *Acta Universitaria* 26(5): 31-39.
- López-Ruvalcaba, O.A., R. González-Garduño, M.M. Osorio-Arce, E. Aranda-Ibañez and P. Díaz-Rivera. 2013. Cargas y especies prevalentes de nematodos gastrointestinales en ovinos de pelo destinados al abasto. *Revista mexicana de ciencias pecuarias* 4(2): 223-234.
- Marino, C.T., B. Hector, P.M. Rodrigues, L.O. Borgatti, P.M. Meyer, E.J. Alves da Silva and E.R. Ørskov. 2010. Characterization of vegetables and fruits potential as ruminant feed by *in vitro* gas production technique. *Livestock Research for Rural Development* 22(9).
- Menke, K.H. and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development* 28: 7-12.
- Patra, A.K., D.N. Kamra and N. Agarwal. 2006. Effect of spices on rumen fermentation, methanogenesis and protozoa counts in *in vitro* gas production test. In *International Congress Series* 1293:176-179. Elsevier.
- Sall, J., A. Lehman, M. Stephens and L. Creighton. 2012. *JMP® Start Statistics: a guide to statistics and*

- data analysis, 5th edn. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.
- Sifuentes-Penagos, G., S. León-Vásquez and L.M. Paucar-Menacho. 2015. Estudio de la maca (*Lepidium meyenii* Walp.): cultivo andino con propiedades terapéuticas. *Scientia Agropecuaria* 6(2): 131-140.
- Theodorou, M.K., B.A. Williams, M.S. Dhanoa, A.B. McAllan and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 48: 185–197.
- Wanapat, M., P. Khejornsart, P. Pakdee and S. Wanapat. 2008. Effect of supplementation of garlic powder on rumen ecology and digestibility of nutrients in ruminants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 88: 2231–2237.
- Yang, E.J., S.I. Kim, S.Y. Park, H.Y. Bang, J.H. Jeong, J.H. So and K.S. Song. 2012. Fermentation enhances the *in vitro* antioxidative effect of onion (*Allium cepa*) via an increase in quercetin content. *Food and chemical toxicology* 50(6): 2042-2048.