

PROYECTO DE IMPLEMENTACIÓN DE LA TÉCNICA DE PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO* CON HECES CAPRINAS COMO INOCULO EVALUANDO FORRAJES TROPICALES PRESENTES EN EL CAÑÓN DEL CHICAMOCHA

PROJECT OF IMPLEMENTATION OF THE TECHNIQUE OF IN VITRO GAS PRODUCTION FROM GOAT FECES AS INOCULUM TO VALUATE TROPICAL FORAGES PRESENT IN CHICAMOCHA CANYON

Germán Mejía Porras^{1,2}, Daniel Adyro Martínez Bello^{1,2}, Javier Enrique Vargas-Bayona^{1,2*}

¹Grupo de Investigación en Ciencias Animales-Universidad Cooperativa de Colombia. *javier.vargasb@campusucc.edu.co

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Cooperativa de Colombia, Sede Bucaramanga.

Abstract

The typical weather in the region of Santander Chicamocha Canyon, are characterized by long periods of drought and very sporadic rainfall, which brought in its wake a fairly arid region with little fodder availability and quality of these is unknown, but in this ecosystem so special Santandereana race was developed, which takes advantage of forage food typical of this area. The study objective is to implement the technique of in vitro gas production using goat deposited four stool specimens of the Santandereana race, each housed in a metabolic cage. The study will use fodder matarratón (*Glirisdia sepium*), espino de chivo (*Acacia farnesiana*) and espino gallinero (*Pitheclelobium dulce*) collected along the Chicamocha Canyon. The samples will be analyzed for dry matter and crude protein according to AOAC 1990. In vitro degradability of gas production, using as inoculum the stool, will be held according to the procedure described by Tilley and Terry (1963) (Mauricio 1999) and (Posada and Rosero 2006). The experimental readings are taken at 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 and 96 hours. The volume of gas produced during the fermentation process will be used to estimate the parameters of fermentation by adjusting the data to the model proposed by Ørskov-McDonald (1979) $[a + b * (1 - \text{EXP}(-c * t))]$. The results will be analyzed individually for each species forage using a linear mixed model in PROC MIXED procedure of SAS program (2010). Additionally, determine ANOVA, Tukey test comparisons at 5%, supplemented by descriptive analysis using statistical program SAS / STAT 9.2 (SAS Institute Inc. 2010).

Palabras clave:

Forrajes nativos
Producción caprina
Valor nutritivo

Keywords:

Native forage
Goat production
Nutritive value

Resumen

Las condiciones climáticas típicas en la región del cañón del Chicamocha Santandereano, se caracterizan por presentar largas épocas de sequía y lluvias muy esporádicas, que traen como secuela una región bastante árida con escasa disponibilidad de forrajes y desconociéndose la calidad de estos; sin embargo en este ecosistema tan especial se desarrolló la cabra santandereana, que aprovecha al máximo la oferta de alimento de forraje típico de esta zona. El objetivo del estudio es implementar la técnica de producción de gas *in vitro* con el uso de heces caprinas depuestas de cuatro ejemplares de la raza santandereana, alojados cada uno en una jaula metabólica. Para el estudio se utilizaran los forrajes matarratón (*Glirisdia sepium*), espino de chivo (*Acacia farnesiana*) y espino gallinero (*Pitheclelobium dulce*) que se colectaran a lo largo del cañón del Chicamocha. Las muestras serán analizadas en su contenido de materia seca y proteína bruta de acuerdo a AOAC 1990. La degradabilidad *In vitro* de producción de gas, utilizando como inóculo las heces, se realizara de acuerdo al procedimiento descrito por Tilley y Terry (1963), (Mauricio 1999) y (Posada y Rosero 2006). Las lecturas experimentales serán tomadas a los tiempos 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 y 96 horas. El volumen de gas producido durante el proceso fermentativo será usado para estimar los parámetros de fermentación por el ajuste de los datos al modelo propuesto por Ørskov-McDonalds(1979) $[a+b*(1-EXP(-c*t))]$. Los resultados obtenidos serán analizados individualmente para cada especie forrajera mediante un modelo mixto lineal bajo el procedimiento PROC MIXED del programa estadístico SAS (2010). Adicionalmente se

determinará ANOVA, prueba de comparaciones con Tukey con un 5%, complementado mediante el análisis descriptivo usando programa estadístico SAS/STAT 9.2 (SAS Institute Inc. 2010).

Introducción

Los avances científicos en las ciencias pecuarias han permitido entender y analizar muchos eventos y procesos que se llevan a cabo dentro del organismo animal, de esta manera a través de los años científicos han enfatizado en diversas ramas de las ciencias tales como la reproducción, producción animal, genética, nutrición entre otras. Buscando mejorar condiciones que puedan llevar a mejorar la rentabilidad y desempeño, llevando beneficio tanto a productores como a consumidores.

La nutrición es una rama de las ciencias pecuarias que ha tratado de entender las cinéticas de los alimentos, su degradación fermentación y asimilación en el tracto digestivo, y de esta manera analizar el desempeño de ciertos alimentos valorando en cada uno sus componentes o nutrientes. Así de alguna manera se logra estimar que elementos son más aprovechados y cuáles no tienen un valor nutricional. Para eso fueron desarrollados métodos de digestibilidad los cuales han variado su metodología con el paso de los tiempos, desarrollando una acorde a cada necesidad de investigación, sin embargo los métodos de digestibilidad *in vitro* han tenido una gran importancia para la nutrición animal, ya que con un método más fácil, a menor costo por medio del análisis de la fermentación ruminal permite estimar la digestión total de muchos nutrientes, casi reemplazando a los métodos de digestibilidad *in vivo*, los cuales siempre han generado mucho más costos y gastos de tiempo.

La importancia que ha tenido la técnica de digestibilidad *in vitro* de forrajes por medio de la técnica de producción de gases radica en que se constituye en una herramienta fundamental para la investigación tanto en los programas de especializaciones como en el pregrado, como una técnica didáctica y científica para entender muchos de los procesos digestivos llevados a cabo en el organismo animal, que de alguna manera permitirán que la práctica de estos ensayos en las universidades sean las bases para desarrollos científicos en nutrición. El objetivo del trabajo es implementar la técnica de producción de gas *in vitro* con el uso de heces caprinas ya depuestas y valorar su empleo en matarratón (*Glirisdia sepium*), espino de chivo (*Acacia farnesiana*) y espino gallinero (*Pithecllobium dulce*).

Material y métodos

Población: El proyecto se realizara con cuatro ejemplares caprinos de la raza Santandereana, Alojados en el Centro de Investigación y Producción Pecuaria “Guatiguara” de la Universidad Cooperativa de Colombia, el cual está ubicado a 10 minutos del casco urbano del municipio de Piedecuesta en el departamento de Santander donde se instalaran los ejemplares. Cada ejemplar tendrá una jaula metabólica, los cuales tendrán libre acceso a agua limpia, sal mineralizada al 8% de una marca comercial y se alimentaran *ad libitum* de acuerdo con la oferta forrajera presente en el Centro de Investigación y Producción Pecuaria

Tratamiento de las muestras: Para el estudio se utilizaran los siguientes forrajes: 1) matarratón (*Glirisdia sepium*), 2) espino de chivo (*Acacia farnesiana*) y 3) espino gallinero (*Pithecllobium dulce*). Las muestras serán colectadas a lo largo del cañón del Chicamocha sobre la vía que comunica al municipio de Piedecuesta con San Gil Santander. Región que se caracteriza por baja pluviosidad y una oferta constante de los forrajes a lo largo del año, esto debido a las quebradas y ríos aledaños al cañón del Chicamocha. Luego de colectada las muestras serán secadas a 105°C por 24 horas en estufa de ventilación forzada. Luego de este tiempo son expuestas a temperatura ambiente hasta que alcancen un peso constante. Posteriormente los forrajes serán molidos en molino de martillo (Chisty & Norris, Shelmsford, England. UK) Los análisis de la laboratorio se efectuaran con las muestras molidas a 1 mm, en el laboratorio integrado de nutrición animal, bioquímica y de pastos y forrajes, Facultad de ciencias agrarias, universidad de Antioquia, sede en Medellín.

Técnica de gases: Las muestras de forraje molidas a 1mm serán utilizadas en el estudio *in vitro*. El medio de cultivo será preparado un día antes del inicio del experimento de acuerdo con las recomendaciones de Mauricio et al., (2001). El medio será fuertemente agitado para permitir la completa mezcla de las soluciones, transferido para un extractor de gases y saturado continuamente con CO₂ por dos horas hasta que tome una leve coloración rosa.

La incubación se realizara en frascos de vidrio con capacidad de 125ml. Un día antes del inicio del experimento será adicionado manualmente a cada frasco 45 ml de medio de cultivo mediante la utilización de una probeta graduada. Los frascos serán sellados con tapas de caucho (14 mm de diámetro) y manteniéndolos en refrigeración a 4°C para evitar cualquier tipo de fermentación. Cinco horas antes de la inoculación los frascos serán removidos del refrigerador y llevados a una estufa de ventilación forzada a 39°C.

Preparación del inoculo e inoculación: El líquido ruminal será retirado manualmente a través de los cuatro caprinos usando sonda oro-gástrica y almacenando en garrafas térmicas (cada animal constituirá una repetición) después de la colecta, el líquido ruminal será filtrado a través de dos paños de algodón, la parte sólida retirada de los paños será rápidamente transferida para una licuadora con cierta porción de líquido ruminal y licuado por 20 segundos. Después de este procedimiento el material licuado será nuevamente filtrado y transferido para un erlenmeyer mantenido a un baño maría a 39°C y continuamente saturado con CO₂. Este procedimiento será realizado para garantizar el inoculo resultante, este compuesto por microorganismos ruminales adheridos y transferidos para la estufa de ventilación forzada a 39°C.

Las fuentes de inoculo, las heces ya depuestas de los caprinos se colectaran en bandejas plásticas que se ubicaran por debajo de la de la jaula metabólica, y se seleccionaran las heces aquellas que presenten mayor humedad. Los animales tendrán libre acceso a agua limpia y se alimentarán dos veces al día con ensilaje de pasto elefante y matarratón (*Glirisdia sepium*), espino de chivo (*Acacia farnesiana*) y espino gallinero (*Pithecellobium dulce*), sin suplementación. En todos los casos, el inoculo (heces o líquido ruminal) se tomara de los animales en ayuna momentos antes de iniciar la corrida experimental.

Lecturas de Producción de gas: La presión originada de los gases acumulados en la parte superior de los frascos será medida a través de un transductor de presión conectado a lector digital. Los datos de presión serán rápidamente transferidos a un computador para su posterior análisis. Las lecturas serán realizadas en los horarios 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 y 96 horas. Una aguja acoplada al transductor será insertada a través de la tapa de caucho y la presión medida y almacenada.

El volumen de gas producido durante el proceso fermentativo será usado para estimar los parámetros de fermentación por el ajuste de los datos al modelo propuesto por Ørskov-McDonalds (1979) [$a+b*(1-EXP(-c*t))$], donde: a- en este caso, puede representar la magnitud de la fase lag, a+b - potencial de producción de gas, mL, c - velocidad de producción de gas, mL h⁻¹

Resultados

Análisis estadístico: Los resultados obtenidos serán analizados individualmente para cada especie forrajera a través de un modelo mixto lineal. Los parámetros del modelo de análisis son los siguientes:

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_{ik} + \alpha_{jk} + (\beta_{\alpha})_{ijk} + b_{1ijk} + b_{2ikk} + \epsilon_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} corresponde a la medición de la presión del gas producido en el tratamiento i, en el tiempo j, en el animal k; μ: media general. β: efecto tratamiento. α: efecto de la hora. β_α: interacción tratamiento hora. b_{1j}: intercepto (aleatorio). b_{2j}: tratamiento en el tiempo (aleatorio). E_{ijk}: error en i tratamiento, j tiempo, k individuo. El análisis se realizara mediante el procedimiento PROC MIXED del programa estadístico SAS (2007) Adicionalmente se realizaran comparaciones multiples por medio de la prueba de comparaciones con Tukey con un 5%, complementado mediante el análisis descriptivo usando programa estadístico SAS/STAT 9.2 (SAS Institute Inc. 2007).

Bibliografía

- Giraldo, L. A., Gutiérrez, L. A., Rúa C. 2007. Comparación entre dos técnicas *In Vitro e In situ* para estimar la digestibilidad verdadera en varios forrajes tropicales. En: Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias 20, 269-279.
- Goering, H., Van Soest. 1970 Forage fiber analysis ARS/USDA Agric. Handbook No. 379 U.S.A
- H. G. Jung and M. S. Allen, Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants En: J Anim Sci 1995 73: 2774-2790
- Mauricio RM., Owen E, Mould FL, Givens I, Theodoru MK, France J, Davies Dr, Dhanoa MS. Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an *In vitro* gas production technique for evaluating forages. Animal feed science and Technology. 2001; 89:
- Ørskov, E. R. y McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 92: 499-503.
- Posada Ochoa, S. L., Rosero Noguera, J. R., Bolivar Vergara, D. M. 2006. Relación entre presión y volumen para la implementación de la técnica in vitro de producción de gases en Medellín, Colombia. En: Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias. V.19 fasc.4 p.407 – 414.
- Tilley JMA, Terry RA. 1963. A two stage technique for the *In Vitro* of forage crops. J. Br. Grassl. Soc.; 18: 104-111