

ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE PRODUCCIÓN DE GAS IN VITRO CON HECES CAPRINAS EN LA DEGRADACIÓN DE MATERIA SECA EN FORRAJES TROPICALES

STANDARDIZATION OF THE IN VITRO GAS PRODUCTION TECHNIQUE WITH GOAT FECES IN THE DRY MATTER DEGRADABILITY IN TROPICAL FORAGES

Martínez D.A.^{1*}, Vargas-Bayona J.E.^{1,2}, Morales E.¹, Melgarejo L.M.¹

¹Grupo de Investigación en Ciencias Animales Universidad Cooperativa de Colombia. *daniel.martinez@campusucc.edu.co

²Estudiante Maestría en Ciencias en Producción Agropecuaria Tropical, Universidad Autónoma de Chiapas

Keywords: Nutrition; Evaluation; Forage.

Palabras clave: Nutrición; Evaluación; Forraje.

Abstract

It was standardized an *In Vitro* gas production technique using goat feces, to evaluate the dry matter digestibility of American native forages. Metabolic cages housed two adult male goats, fed ad libitum during 72 hours with every one of the forages. At the end of the 72 hours, feces were collected during 4 hours, and they were mixed with buffer solution in dilution 3:1 or 5:1, constituting inoculum deposited in 125 ml glass flasks containing 1 or 0.5 g of dried and milled forage at 1 mm, with 25, 50 or 75 ml of inoculum, under CO₂ atmosphere. Flasks were incubated at 39° C in forced ventilation oven, recording the gas volume produced during 72 hours. Dilution 3:1 produced greater gas production than 5:1 dilution. One gram of substrate produced more gas than 0.5 g. *Zanthoxylum microcarpum* produced the greatest amount of gas, followed by *Bursera simaruba*. *Gliricidia sepium* produced the least gas production. The technique showed a great possibility to make nutritional evaluation of American native forages, given the flexibility and low cost.

Resumen

Se estandarizo la técnica de producción de gas *In Vitro* usando heces caprinas, para evaluar la digestibilidad de la materia seca de forrajes nativos americanos. Dos caprinos machos adultos de la raza Santandereana fueron alojados en jaulas metabólicas y alimentados a libre disposición en periodos de 72 horas con cada forraje. Al final de las 72 horas, las heces fueron colectadas durante un período de 4 horas, y fueron mezcladas con buffer solución en proporción 3:1 o 5:1, para constituir inóculos, depositados en frascos de 125 ml con forraje desecado y molido a 1 mm, con 25, 50 y 75 ml de inóculo, bajo una atmosfera de CO₂. Los frascos fueron incubados a 39°C en horno de ventilación forzada, y se registró el volumen de gas producido durante 72 horas. La dilución 3:1 produjo más gas que la dilución 5:1. *Zanthoxylum microcarpum* produjo más gas, y el que menos produjo fue *Gliricidia sepium*. La técnica muestra una gran posibilidad para hacer evaluación nutricional de forrajes nativos americanos, con gran flexibilidad y bajo costo.

Introducción

El bosque seco del cañón del río Chicamocha, en Santander, Colombia, se caracteriza por presentar temporadas largas de sequía y lluvias esporádicas, haciendo de la región una zona árida, donde la disponibilidad y calidad nutricional de forrajes es baja. La cabra Santandereana, cuenta con una gran adaptabilidad al medio hostil del cañón del Chicamocha Santandereano y a los tipos de forrajes que crecen. Las técnicas de digestibilidad *In Vitro*, permiten realizar una evaluación rutinaria de la fermentación ruminal empleando líquido ruminal como en la técnica descrita por Tilley y Terry (1963) o alternativamente sin la utilización de líquido ruminal mediante el empleo de complejos enzimáticos y heces fecales Posada et al (2006). La técnica *In Vitro* de producción de gases se enfoca en la degradación de la materia seca y el parámetro a medir es la producción de gas a partir de la degradación del sustrato, es decir los forrajes a estudiar. Este método tiene utilidad para establecer parámetros de degradación y aprovechamiento de los forrajes típicos del Chicamocha Santandereano. El objetivo fue estandarizar una técnica de producción de gas *In Vitro* para establecer la digestibilidad de la materia seca utilizando heces como inóculo, sobre forrajes tropicales.

Material y métodos

El estudio se realizó en el Centro Académico Agroindustrial El Ciruelo, situado a 4 kilómetros de San Gil en el departamento de Santander, en latitud 6°32' N y longitud 73°7' O, altura de 1114 msnm y temperatura promedio de 24°C. Dos caprinos machos adultos de la raza Santandereana se alojaron en jaulas metabólicas y alimentados *ad libitum* en períodos de 72 horas con cada uno de 5 forrajes nativos: *Zanthoxylum microcarpum* (abataque), *Bursera simaruba* (carate), *Acacia farnesiana* (espino de chivo), *Pithecellobium dulce* (espino gallinero) y *Gliricidia sepium* (matarratón). Al final de las 72 horas, las heces fueron colectadas durante un período de 4 horas, y fueron mezcladas con buffer en proporción 3:1 o 5:1, para constituir inóculos que fueron depositados en frascos de 125 ml que contenían 1 ó 0.5 g de forraje desecado y molido a 1 mm, adicionando 25, 50 ó 75 ml de inóculo a cada frasco, en atmósfera de CO₂. Los frascos fueron incubados a 39°C en horno de ventilación forzada, y se registró el volumen de gas producido a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 21, 24, 30, 36, 48 y 72 horas. Los datos se evaluaron con estadística descriptiva. El buffer utilizado fue una adaptación de Theodorou et al (1994). Para producir 2000 ml de buffer se añadieron en un balón aforado CaCl₂: 0.8g, MgSO₄: 0.94 g, NaHCO₃: 19.6 g, Na₂HPO₄: 7.42 g, KCl: 1.14 g, NaCl: 0.94 g, 2000 ml de agua destilada. Se mezclaron bien y se adiciono Resazurina: 1 ml seguidamente se procedió a adicionar CO₂ por medio de una manguera y manteniendo el medio a una temperatura de 39°C. Cuando la solución cambio su color violeta a un ligero color rosa se añadió el inóculo.

Resultados

En la tabla I se observa la producción acumulada promedio y desviación estándar, de la producción de gas en el período de 72 horas. Cuando se utilizó 1 gramo de sustrato, La producción más rápida y abundante de gas se dio en la dilución 3:1 en el *Zanthoxylum microcarpum* en las tres cantidades de inóculo, seguidos por el *Bursera simaruba* con 50 y 75 ml. Los forrajes que siguieron en producción de gas fueron en dilución 3:1, el *Bursera simaruba* con 25 ml, y el *Pithecellobium dulce* con 75 ml y el *Bursera simaruba* en dilución 5:1 con 50 y 75 ml. Finalmente, en la dilución 3:1 el *Acacia farnesiana* con 25, 50 y 75 ml de inóculo; y *Pithecellobium dulce* con 25 y 50 ml, y este último en dilución 5:1 con 25 ml, y el *Gliricidia sepium* en la dilución 3:1. Con 0.5 gramos de sustrato, se produjo muy poco gas en el período de 72 horas, en los forrajes bajo prueba.

Tabla I. Producción acumulada de gas (ml) a 39°C en 72 horas, para los forrajes analizados (*Cumulative gas production (ml) at 39°C at 72 hours for analyzed for forage*)

Cantidad de Inoculo	25 ml		50 ml		75 ml	
	Sustrato 1 gramo					
	Dilución 3:1					
Forraje	n	$\bar{Y} \pm s$	n	$\bar{Y} \pm s$	n	$\bar{Y} \pm s$
<i>Zanthoxylum microcarpum</i>	2	110.5 ± 3.5	2	127.3 ± 6	2	126 ± 15.2
<i>Bursera simaruba</i>	6	72 ± 21.4	6	106.1 ± 3.7	6	101.3 ± 7.8
<i>Acacia farnesiana</i>	2	62 ± 7.1	2	65.3 ± 25.1	2	56.3 ± 6.7
<i>Pithecellobium dulce</i>	2	58 ± 19.1	2	71 ± 3.5	2	117.5 ± 44.9
<i>Gliricidia sepium</i> ^a	4	38 ± 4	4	42.1 ± 4.6	3	34.7 ± 2.3
	Dilución 5:1					
<i>Pithecellobium dulce</i>	2	71.8 ± 0	2	84.3 ± 7.1	2	86.5 ± 8.5
	Sustrato 0.5 gramos					
	Dilución 3:1					
<i>Pithecellobium dulce</i>	2	14.5 ± 12.7	2	27.8 ± 6	2	29.9 ± 4.4
	Dilución 5:1					
<i>Pithecellobium dulce</i>	2	17.5 ± 9.2	2	28.3 ± 8.8	2	28.5 ± 1.4

^a La producción de gas en *Gliricidia sepium* solo se midió hasta las 48 horas

Discusión

Se determinó que la dilución 3:1 necesitó menor cantidad de inóculo y presentó mayor producción de gas que la dilución 5:1. En cuanto a la cantidad del sustrato se suspendieron los estudios con 0.5 g, y se continuaron los ensayos con 1 g pues la producción de gas fue baja. En cuanto a la cantidad de inóculo, los tratamientos con 25 ml, produjeron muy poco gas, y los tratamientos con 50 y 75 ml tuvieron resultados similares en cantidad y

producción de gas, determinando que la mejor cantidad de inóculo para utilizar la técnica es 50 ml de inóculo. El forraje de mayor producción de volumen de gas fue el *Zanthoxylum microcarpum* que produjo abundante gas, con niveles constantes con el transcurso del tiempo y en los tres niveles de inóculo; y en segundo lugar en producción de gas, la *Bursera simaruba*. La *Gliricidia sepium* fue el forraje que tardó más en iniciar su producción de gas y presentó menor volumen de gas debido quizá a que este forraje necesitaba más de 72 horas para alcanzar un máximo de producción de gas, y a que no era un forraje palatable. Los datos de este tipo de pruebas se pueden modelar utilizando modelos no lineales (Noguera, Salibi & Mauricio, 2006), y se hizo para los diferentes tratamientos ajustados, aunque los resultados no se muestran en este reporte.

Conclusiones

Esta técnica se implementó para analizar calidad nutricional de forrajes, como una forma indirecta de medir digestibilidad de materia seca. Se realizó la estandarización de la técnica, logrando establecer un método con baja instrumentalidad, amigable con el medio ambiente, económico y de montaje rápido. Sin embargo, quedan algunos aspectos por mejorar, tales como: es necesario ajustar la técnica para asociar la producción de gas con la degradación del sustrato, probar la disminución de la cantidad de inóculo utilizando recipientes con menor volumen para utilizar menos sustrato y heces fecales, utilizar tiempos más largos de producción de gas, probar con diferentes forrajes y chequear diferencias entre animales experimentales, entre otras.

Bibliografía

- Noguera, R.R., Saliba, E.O. & Mauricio, R.M. (2004) Comparación de modelos matemáticos para estimar los parámetros de degradación obtenidos a través de la técnica de producción de gas. *Livestock Research for Rural Development* 16 (11). Disponible en: <http://www.lrrd.org/lrrd16/11/nogu16086.htm>
- Posada, S., Noguera, R., & Bolívar, D. (2006). Relación entre presión y volumen para implementación de la técnica in vitro de producción de gases en Medellín, Colombia: *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 19(4), 407-413.
- Theodorou, M., Williams, B., Dhanoa, M., McCallan, A., & France, A. (1994). Simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48 (3-4), 185-197.
- Tilley, J & Terry, A. (1963). A two stage technique for the In vitro digestion of forage crops. *Br. Grassl. Soc.* 18: 104-111.