

## EFFECTO DEL HORARIO DE CORTE SOBRE LA PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO* DE PASTURAS

Caramelli A<sup>1\*</sup>, Antúnez M<sup>1</sup>, Britos A<sup>1</sup>, Zanoniani R<sup>1</sup>, Repetto J.L<sup>2</sup>, Boggiano P<sup>3</sup>, Cajarville C<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Nutrición, <sup>2</sup> Departamento de Bovinos, Facultad de Veterinaria, Udelar. Las Placetas 1550, Montevideo-Uruguay. <sup>3</sup> Departamento Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía EEMAC. Proyecto financiado por CSIC-Udelar. alexacaramelli@gmail.com

### Resumen

El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del momento de corte (9:00, 13:00 y 17:00 h) sobre la producción de gas *in vitro* de 8 pasturas en estado vegetativo. La producción de gas fue estimada según el método propuesto por Mauricio et al. (1999). Los sustratos fueron incubados a 39,5 °C, durante 96 h. Para estimar la evolución de la producción de gas, los datos obtenidos se ajustaron a un modelo exponencial simple con latencia (tiempo de retardo de colonización). Las pasturas cosechadas en la tarde presentaron mayor fermentescibilidad que las de la mañana (212 vs 200 ml/g MS incubada; P=0,023).

### Introducción

El proceso de digestión de los rumiantes, involucra una serie de interacciones entre la dieta, los microorganismos ruminales y el animal hospedador. Entre los productos finales de la fermentación, los ácidos grasos volátiles y la proteína microbiana son de importancia nutritiva para el animal, y el metano, dióxido de carbono e hidrógeno son productos de desecho (Van Soest, 1994). La composición química del alimento modifica la producción de gas, principalmente a través de la variación en el contenido de azúcares de las pasturas (Britos et al. 2006; Repetto et al. 2006; Berthiaume et al. 2006), por lo que bajas concentraciones pueden limitar la fermentación ruminal. Distintos métodos *in vitro* se han propuesto para la estimación de la dinámica fermentativa ruminal. La producción de gas *in vitro* puede ser utilizada para describir la digestibilidad del forraje y la cinética de la fermentación ruminal de los alimentos (Schofield y Pell, 1995). La técnica permite valorar la producción acumulada de gas producto de la fermentación con microorganismos ruminales y un medio de cultivo (McBee, 1953; Hungate, 1966; Menke y Steingass, 1988). Actualmente puede cuantificarse la producción de gas por sistemas automatizados (Cone et al, 1996) o parcialmente automatizados (Theodorou et al, 1994; Mauricio et al, 1999). El objetivo del trabajo fue determinar el efecto del horario de corte en un conjunto de muestras de pasturas sobre la producción de gas *in vitro*.

### Materiales y Métodos

Ocho Forrajes en estado vegetativo fueron cortados a 1 cm del suelo en distintos momentos del día (9:00, 13:00 y 17:00 h) en la Estación Experimental Mario A. Cassinoni (EEMAC) Facultad de Agronomía-Paysandú (32° 19' S, 58° 4' O) en agosto de 2004. Las muestras incluyeron las especies: *Lolium multiflorum* cv. 284, *Lolium perenne* cv. Horizont, *Lolium* híbrido (*multiflorum* x *perenne*) cv. Galaxy, *Bromus auléticus* ecotipo Cangüé.

La determinación de la producción de gas *in vitro* se llevó a cabo en la Unidad de Digestión y Metabolismo Ruminal del departamento de Nutrición Animal en el Campo Experimental N°2 (34°41'S, 56°32'O), mediante la técnica de Mauricio et al. (1999). La incubación se llevó a cabo en frascos de vidrio de 125 ml de capacidad en los cuales se pesó 0,5 g de muestra por triplicado. Un día antes de la inoculación se adicionó a los frascos 38 ml de solución basal libre de N [0,6g KCl, 0,6g NaCl, 0,2g CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0,5g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 1,46g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 3,55g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 10ml solución minerales traza (0,025g MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0,020g FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,025g ZnCl<sub>2</sub>, 0,025g CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0,050g CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0,050g SeO<sub>2</sub>, 0,250g NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0,250g Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0,0314g NaVO<sub>3</sub>, 0,250 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> por litro de HCl 0,02 molar) y 10ml de Hemina (0,1g/l agua destilada) por litro de agua destilada], 2 ml de solución de bicarbonato (82g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/l agua destilada y gaseado con CO<sub>2</sub>) y 0,5 ml de solución reductora (20,5g Na<sub>2</sub>S·9H<sub>2</sub>O/l agua destilada) (Williams et al. 2005). Inmediatamente los frascos fueron saturados por una corriente de CO<sub>2</sub>, tapados con tapón de goma y almacenados a 4°C durante toda la noche. El inóculo (líquido ruminal fresco) procedió de una vaca Holstein de 550 kg de peso vivo, en lactación, provista de una cánula ruminal y alimentada con una pradera mezcla (consumida por pastoreo directo), ensilaje de planta entera de maíz y de pradera. Se extrajo contenido ruminal de forma manual a través de la cánula y se filtró por 4 capas de paño de quesería, almacenándose el líquido ruminal en un recipiente térmico precalentado a 39,5°C. Inmediatamente el líquido fue transportado al laboratorio y sometido a un gaseado permanente de CO<sub>2</sub>, mientras se inoculó cada uno de los frascos de fermentación. Para la inoculación los frascos con sustrato y medio de cultivo fueron precalentados a 39,5°C en baño María, se les agregó 10 ml de inóculo, saturados con CO<sub>2</sub>, nuevamente tapados con tapón de goma y finalmente cerrados herméticamente con precinto de aluminio. Los frascos fueron depositados nuevamente en el baño María, donde permanecieron todo el período de incubación a 39,5°C. Se utilizaron 3 frascos como blancos conteniendo el medio y líquido ruminal pero sin sustrato. Para realizar la medición de presión en el interior de los frascos de fermentación se utilizó un manómetro digital (Cole Parmer Instrument Co.), unido a una aguja hipodérmica de 0,6 mm; Las lecturas de presión fueron realizadas a las 2, 4, 6, 9, 12, 15, 24, 48, 72 y 96 h. La aguja fue insertada a través del tapón de goma de los frascos y la presión en psi registrada en el manómetro. Al gas generado por cada frasco se le restó el producido por los blancos. Los datos de presión fueron transformados en volumen mediante la ecuación de predicción: V (ml)= 4,40 P (psi) + 0,09 P<sup>2</sup> (psi) obtenida en un experimento previo. Los resultados de producción de gas se ajustaron a un modelo exponencial simple con latencia:  $y = a(1 - e^{-c \cdot t})$



Tabla. Volumen total de gas producido (a), tasa de producción de gas (c) y tiempo de retardo de colonización (L), según el momento del día.

	Horarios			P	
	9	13	17	9 vs 13+17	13vs17
a	200,34	203,60	211,89	0,023	0,027
c	0,074	0,074	0,074	ns	ns
L	0,51	0,38	0,32	0,062	ns

P: probabilidad de los contrastes ortogonales; ns: no significativo ( $P>0,05$ ); 9 vs 13+17 contraste entre hora 9 y horas 13 y 17; 13 vs 17 contraste entre hora 13 y hora 17.

L); donde "a" es el volumen total de gas producido en ml de gas/g de MS incubada (ml/MSi); "c" la tasa de producción de gas como %/h; "t" el tiempo de incubación en h y "L" tiempo de retardo de colonización en h.

Los parámetros de producción de gas fueron comparados entre horarios de corte considerando el efecto de la parcela. Las medias para horarios fueron separadas mediante contrastes ortogonales.

### Resultados y Discusión

Como se observa en la tabla las pasturas presentaron una producción total acumulada de gas que fue creciendo significativamente a lo largo del día, coincidiendo con lo reportado por otros autores para diferentes especies forrajeras (Britos et al., 2006; Repetto et al., 2006; Berthiaume et al., 2006), quienes atribuyeron este comportamiento a aumentos en el contenido en azúcares a medida que avanza el día. En estas pasturas, el contenido en azúcares fue en promedio de 5.75 (9h) y 9.28 (17 h). El tiempo de latencia tendió a ser menor en los forrajes cosechados por la tarde en comparación con los de la mañana. El menor tiempo de latencia es indicativo de un comienzo más rápido en la producción de gas y estaría relacionado con un aumento de compuestos de rápida fermentación en las pasturas cortadas por la tarde; hecho que se relaciona al aumento de los azúcares que ocurre a medida que avanza el día (Smith, 1973; Ciavarella et al., 2000). La velocidad de producción de gas ("c"), sin embargo no fue significativamente distinta entre las horas de corte, a diferencia de lo reportado por Repetto et al. (2006) para festuca y alfalfa muestreada en otoño.

### Conclusiones

Las pasturas cosechadas por la tarde presentaron una mayor producción total de gas que los cosechados en la mañana y mediodía. Esto debería tenerse en cuenta en el momento de fijar estrategias de pastoreo.

### Summary

The aim of this work was to determine the effect of the timing of cut (9:00, 13:00 and 17:00 h) on *in vitro* gas production of 8 pastures in a vegetative stage. The gas production was estimated based on the method developed by Mauricio et al. (1999). The samples were incubated at 39,5 °C, during 96 hours. Cumulative gas production data were fitted to the simple exponential model with lag (time of

delay of microbial colonization). Pastures cut on the afternoon had higher total gas production than cut on the morning (212 vs 200 ml/g MS incubated;  $P=0.023$ ).

### Referencias Bibliográficas

- A.O.A.C. 1984. Official Methods of Analysis. 14<sup>th</sup> Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.
- Berthiaume R., Tremblay G., Castonguay Y., Bertrand A., Bélanger G., Lafrenière C., Michaud R. 2006. Length of the daylight period before cutting improves rumen fermentation of alfalfa assessed by *in vitro* gas production. *J. Anim. Sci.* 84 (1): 102 / *J. Dairy Sci.* 89 (1): 102.
- Britos A., Repetto J.L., Errandonea N., Garciarena D., Cajarville C. 2006. Efecto del momento de corte y del proceso de ensilaje sobre la fermentabilidad de forrajes templados: producción de gas *in vitro*. XIV Jornadas de Jovens Pesquisadores da AUGM. p. 534.
- Hungate R.E. The Rumen and its Microbes. Academic Press, New York, USA. 1966.
- Mauricio R.M.; Mould F.L.; Dhanoa M.S.; Owen E.; Channa K.S.; Theodorou M.K. 1999. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 79: 321-330.
- McBee R.H. 1953. Manometric method for the evaluation of microbial activity in the rumen with application to utilization of cellulose and hemicelluloses. *Appl. Microbiol.* 1:106-110.
- Menke K. H.; Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Develop.* 28: 7-55.
- Repetto J.L., Britos A., Errandonea N., Cozzolino D., Cajarville C. 2006. Effect of harvest schedule and plant part on *in vitro* gas production of temperate forages. *J. Anim. Sci.* 84 (1): 102 / *J. Dairy Sci.* 89 (1): 102.
- Schofield P., Pell A.N.. 1995. Validity of using accumulated gas pressure readings to measure forage digestion *in vitro* : a comparison involving three forages, *J. Dairy Sci.* 78: 2230-2238.
- Smith D. 1973. The non-structural carbohydrates. En: Chemistry and Biochemistry of herbage. Vol 1. Ed. G.W. Butler and R.W. Bailey. NY Academic Press, USA.
- Theodorou M.K.; Williams B.A.; Dhanoa M.S.; McAllan A.B.; France J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48: 185-197.
- Van Soest P.J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2<sup>a</sup> Edition. En: Cornell University Press, USA.