

## Efecto del remojo sobre la digestibilidad *in vitro* y características bromatológicas del heno de gramíneas

J R Martínez, R R Noguera<sup>1</sup> y S L Posada Ochoa<sup>1</sup>

*Línea de Investigación en Medicina y Cirugía Equina (LIMCE), Grupo de Investigación CENTAURO, Escuela de Medicina Veterinaria,*

<sup>1</sup> *Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias - GRICA. Escuela de Producción Agropecuaria Universidad de Antioquia, Ciudadela de Robledo, Carrera 75 N° 65-87, Medellín - Colombia*  
[ricnoguera@gmail.com](mailto:ricnoguera@gmail.com)

### Resumen

Este trabajo tuvo como objetivo medir el impacto del remojo sobre la digestibilidad *in vitro* y la composición bromatológica en diferentes tiempos de sumersión en henos comúnmente utilizados para la alimentación de caballos criollos colombianos. Los tratamientos experimentales consistieron en el muestreo de henos comerciales de las especies *Braquiaria humidicola*, *Cynodon nlemfluensis*, *Dichanthium aristatum* y *Digitaria decumbens*, los cuales fueron sometidos a un proceso de inmersión en agua potable durante intervalos de 0, 6, 12, 24 y 48 horas de duración. La técnica *in vitro* de producción de gases fue empleada para determinar la degradación *in vitro* de la materia seca (%), volumen de producción de gas (ml) y producción de metano (ml). La técnica *in vitro* requirió de la preparación del inóculo fecal equino el cual fue colectado *per rectum* de tres equinos de raza criollo colombiano. Los datos fueron analizados bajo un modelo lineal mixto. Las medias de tratamientos fueron comparadas al establecer la diferencia mínima significativa considerando un nivel de significancia del 5%.

Después de 6 horas de inmersión se presentó una clara reducción en las concentraciones de proteína cruda, extracto etéreo, extracto libre de nitrógeno y cenizas. El tiempo de remojo influyó significativamente sobre la degradación de la materia seca ( $p < 0.05$ ). Los porcentajes de degradación disminuyeron conforme el tiempo de remojo aumentó. Prolongados tiempos de remojo incrementaron las concentraciones de carbohidratos estructurales y redujeron la digestibilidad y los contenidos de proteína y minerales, hecho que podría incidir sobre el consumo de materia seca y el desempeño animal.

**Palabras clave:** equinos, inóculo fecal, enfermedad respiratoria

## Effect of soaking on *in vitro* digestibility and bromatological characteristics of grass hay

### Abstract

This work aimed to measure the impact of soaking on *in vitro* digestibility and composition of bromatology in different dipping times in hay commonly used for the feeding of Colombian creole horses. The treatments consisted of sampling commercial hays of *Braquiaria humidicola*, *Cynodon nlemfluensis*, *Dichanthium aristatum* and *Digitaria decumbens*, which were immersed in drinking water during intervals of 0, 6, 12, 24 and 48 hours of duration. The *in vitro* gas production technique was used to determine the *in vitro* degradation of dry matter (%), gas (ml) and methane production (ml). The *in vitro* technique required the preparation of the equine fecal inoculum which was collected (*per rectum*) of three horses of colombian creole breed. The data were analyzed under a mixed linear model. The means of treatments were compared by establishing the minimum significant difference considering a level of significance of 5%. After 6 hours of immersion, there was a clear reduction in crude protein, ethereal extract, nitrogen free extract and ash concentrations. Soak time had a significant influence on dry matter degradation ( $p < 0.05$ ). The dry matter degradation decreased as the soak time increased. Prolonged soaking times increased structural carbohydrate concentrations and reduced digestibility and protein and mineral contents, which could affect dry matter intake and animal performance.

**Key words:** horses, fecal inoculum, respiratory diseases

## Introducción

El manejo nutricional y alimentario cumple un papel importante en la salud de los equinos, tanto en el manejo como en la prevención de cuadros clínicos que inducen a desequilibrios metabólicos y fenotipos relacionados con la obesidad. El caballo Criollo Colombiano (CCC), anecdóticamente se le atribuye una alta predisposición a presentar adiposidad localizada o regional; posiblemente debido a factores extrínsecos como el confinamiento, déficits de ejercicio y malas prácticas alimentarias y nutricionales, que se derivan de los modernos sistemas de manejo; sin descartarse factores intrínsecos como el genético que pueden contribuir a dicha predisposición.

Recientemente, se han adoptado estrategias utilizadas por países estacionales con poblaciones de equinos con alto índice de obesidad; donde se recomienda reducir la ingestión de materia seca (Dugdale et al 2010; Morgan et al 2014) y la implementación de mecanismos para disminuir la concentración de energía derivada de los carbohidratos solubles (CS) presentes en los henos de diferentes tipos de gramíneas (Robinson y Graham 2004; Frank 2011). Una de estas estrategias consiste en el remojo del heno, que ha demostrado ser efectivo para disminuir la concentración de CS (McGowan et al 2013; Argo et al 2015); sin embargo, se ha reportado que ocasiona pérdidas de otros componentes nutricionales que deben ser cuantificados, monitoreados y suplementados de ser necesario (Mack et al 2014; Morgan et al 2016).

Algunos sistemas de producción equina han adoptado esta estrategia no solamente para caballos obesos, sino también para disminuir el material particulado respirable (polvo) que vehiculiza el heno. Manejo válido para caballos con problemas respiratorios crónicos como la obstrucción recurrente de vías aéreas (ORVA) o como complemento a caballos con desbalance hídrico (Clements y Pirie 2007; Lohmann, 2007). Sin embargo, se desconoce el efecto de esta práctica sobre las características bromatológicas del heno elaborado con gramíneas cultivadas en el trópico; una vez que las condiciones climatológicas influyen en la fisiología vegetal y la concentración de nutrientes en la planta (Estrada, 2002).

Ante el creciente uso del heno remojado en el CCC, tanto para estimular la pérdida de peso como para otras recomendaciones médicas; este trabajo tuvo como objetivo medir el impacto del remojo sobre la digestibilidad *in vitro* y bromatología en diferentes tiempos de sumersión en henos comúnmente utilizados para la alimentación de CCC que habitan en la zona del trópico.

## Materiales y métodos

### Localización y tratamientos

Las incubaciones *in vitro* y el análisis químico de las muestras experimentales fueron realizadas en el laboratorio de nutrición animal NutriLab – GRICA, de la Universidad de Antioquia, Colombia. Los tratamientos experimentales consistieron en el muestreo de henos comerciales de gramíneas de las especies *Braquiaria humidicola*, *Cynodon dactylon*, *Dichanthium aristatum* y *Digitaria decumbens*. Un total de 20 fardos de cada especie forrajera fue muestreado; el peso de cada submuestra fue de 500 gramos. Las submuestras fueron mezcladas y de ellas, una muestra compuesta de 2000 gramos fue tomada para ser analizada y procesada como se describe a continuación. Las cuatro especies forrajeras fueron sometidas a un proceso de inmersión en agua potable durante intervalos de 0, 6, 12, 24 y 48 horas de duración. Para esto, una muestra de 400 gramos de heno de cada gramínea, fue molida en molino estacionario con criba de 1mm. La muestra molida de cada especie fue sometida a un proceso de mezclado de homogenización y dividida en 5 fracciones de 80 g de peso, las cuales fueron transferidas a sendos recipientes de vidrio, con capacidad de 1000 ml y sometidas a remojo en agua a temperatura ambiente y a intervalos de diferente duración como previamente descrito. Una vez cumplido el tiempo de inmersión, las muestras se filtraron a través de papel de filtro de celulosa (grado 113) con un tamaño de poro de 5 a 8  $\mu\text{m}$ . El material filtrado fue sometido a secado en estufa a 65° C por 48 horas y almacenado para su posterior análisis.

### Análisis químico

Las muestras de heno de las cuatro especies en estudio sometidas a cinco periodos de inmersión en agua, fueron analizadas para determinar el efecto del remojo sobre las concentraciones de materia seca (MS) (secado en estufa de ventilación forzada a 65° C/48 horas), proteína cruda (PC) (AOAC, 2005), fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) (Van Soest y Robertson, 1985), cenizas por incineración completa de la muestra a 550° C por 4 horas, extracto etéreo (método Soxhlet, AOAC 2005, 2003.05) y extracto libre de nitrógeno (ELN) por diferencia (ELN= 100-(%PC+%FDN+%EE+%cenizas))

### Técnica *in vitro* de producción de gases

La técnica *in vitro* de producción de gases fue empleada como descrito por Mauricio et al (1999). La incubación fue realizada en frascos de vidrio con capacidad de 100 ml. En cada frasco se pesaron 500 mg de las muestras de forraje en estudio y se incubaron en estufa de ventilación forzada a 39° C previa adición de 45 ml de una solución buffer (McDougall, 1948) y 5 ml de inóculo fecal equino procesado como descrito por Posada et al (2012). La preparación del inóculo fecal requirió de la colecta de heces *per rectum* de tres equinos de raza criollo colombiano. Las muestras de heces se almacenaron en garrafas térmicas precalentadas a 39° C y se transportaron al laboratorio para su procesamiento. En el laboratorio, las muestras de heces de cada equino se mezclaron con 300 ml de solución buffer (McDougall, 1948) a 39° C. La mezcla fue agitada con bastón de vidrio para garantizar una solución homogénea. La solución fue filtrada a través de dos paños de algodón, de tal manera que, la fracción líquida constituyó el inóculo fecal y la parte sólida restante fue descartada. Los tres inóculos fecales colectados constituyeron las repeticiones.

### **Variables evaluadas**

Los tiempos de incubación *in vitro* fueron 24 y 48 horas, periodo durante el cual se evaluó: Degradación *in vitro* de la MS (%) (método gravimétrico), volumen de producción de gas (ml) (Posada et al, 2006) y producción de metano (ml) (López y Newbold 2007).

### **Análisis estadístico**

Los datos fueron analizados bajo un modelo lineal mixto, considerando como efectos fijos la especie de gramínea, el tiempo de inmersión en agua, la interacción especie x tiempo de inmersión y como efecto aleatorio el animal donador del inóculo fecal. Las medias de tratamientos fueron comparadas al establecer la diferencia mínima significativa considerando un nivel de significancia del 5%.

### **Resultados y discusión**

De manera general los henos evaluados se caracterizaron por presentar altos contenidos de carbohidratos estructurales (superiores al 77%) y bajas concentraciones de CS (inferiores al 6%) (Tabla 1). Las concentraciones de PC se situaron en el rango habitualmente reportado para este tipo de forraje conservado, variando entre 3.1 y 8.3%, para las condiciones del trópico.

Un efecto estadísticamente significativo del remojo sobre las concentraciones de PC, EE y ELN fueron observados a partir de las 6 horas de inmersión de los henos (Tabla 1). La reducción en las concentraciones de estas fracciones está asociada a la salida de proteínas y carbohidratos solubles, así como también a la salida de pigmentos que son cuantificados en el EE. Durante las primeras 6 horas 20.6 ± 12% de la PC de los henos fue removida, en tanto que, el máximo porcentaje de remoción se observó a las 48 horas de inmersión (30.3 ± 2.2%). La variabilidad en los porcentajes de remoción de la PC observada a las 6 horas puede ser atribuida a la variedad de especies de pasto, etapa de crecimiento a la cosecha y condiciones edáficas. En cultivos maduros, si la proteína está unida a la pared celular, es probable que la lixiviación de este nutriente sea baja, mientras que el forraje frondoso con un contenido de proteína soluble más alto puede sufrir mayores pérdidas de CP después del remojo (Martinson et al 2012).

Los henos evaluados presentaron bajas concentraciones de carbohidratos no estructurales (ELN) (Tabla 1), con valores que variaron entre 3.4 y 5.7%. El remojo de los henos durante 6 horas redujo la concentración de ELN en 36 ± 6% con un aumento concomitante en la FDN del 7 ± 2.5%. El 67% de los carbohidratos no estructurales fue removido con 12 horas de remojo, valor que permaneció inmodificable en los restantes tiempos de inmersión. Resultados similares fueron reportados por Martinson et al (2012), quienes evaluando el efecto del remojo de henos del Alfalfa y Orchardgrass sobre la remoción de carbohidratos y materia seca, encontraron que después de 12 horas de remojo, los henos de alfalfa perdieron el 60.6% de los carbohidratos no estructurales, en tanto que, en el Orchardgrass se perdió el 72%.

Estudios con 9 tipos de henos del Reino Unido, sometidos a diferentes tiempos de remojo (14.5 y 16h) demostraron pérdidas que oscilaron en promedio entre el 27, 32.9 y 51.41% de CS (Longland et al 2011; Mack et al 2014; Argo et al 2015). Teniendo en cuenta que estos henos tuvieron una concentración inicial de carbohidratos no estructurales entre el 12,3 y 23%, mostraron menores pérdidas a un mayor tiempo de remojo; siendo la dinámica de pérdidas contraria en este estudio, además de tener una menor concentración inicial de estos carbohidratos (3.4 y 5.7%). Esto demuestra la existencia de diferencias agronómicas en las gramíneas de países estacionarios que se deben considerar al momento de implementar estas prácticas en las condiciones del trópico.

La concentración de cenizas en los henos fue afectada por el remojo del heno (Tabla 1). En promedio 26 ± 10% del contenido mineral fue removido en las primeras 6 horas de remojo. Periodos más prolongados de inmersión (48 horas) provocaron lixiviación del contenido mineral en un rango del 26.4 al 45.1%. Diferentes investigadores (Collins 1982;

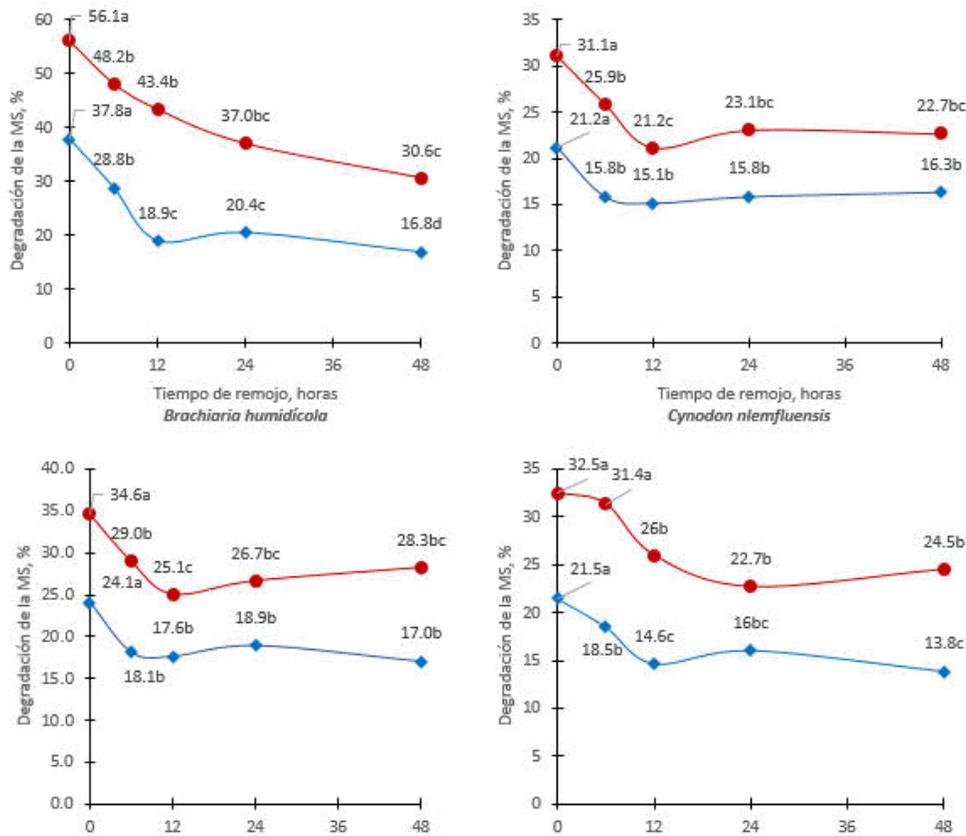
Blackman y Moore-Colyer 1998; Moore-Colyer 1996; Watts 2003) reportan pérdidas significativas en las concentraciones de fósforo (P), potasio (K) y magnesio (Mg) con el remojo. En estos estudios, periodos de inmersión de 30 minutos provocaron lixiviación del 46 a 55% de los minerales antes descritos. Este mismo fenómeno fue observado por Mack et al (2014) con varios heno destinados para equinos, después de 14.5 horas de remojo se demostró pérdidas no solo de macro-minerales sino también de micro-minerales.

**Tabla 1.** Efecto del tiempo de remojo sobre la composición química del heno de gramíneas

Especies de Gramíneas	Horas de inmersión				
	0	6	12	24	48
	<i>materia seca, %</i>				
<i>Braquiaria humidicola</i>	90.1	90.1	89.2	88.3	88.9
<i>Cynodon nlemfluensis</i>	89.8	86.8	89.0	88.7	89.4
<i>Dichantium aristatum</i>	89.9	89.3	88.8	89.3	88.8
<i>Digitaria decumbens</i>	90.3	89.1	89.5	89.7	89.6
	<i>Proteína cruda, % de la MS</i>				
<i>Braquiaria humidicola</i>	8.3a	5.2b	5.3b	5.5b	5.6b
<i>Cynodon nlemfluensis</i>	3.1a	3a	2.6b	2.2b	2.2b
<i>Dichantium aristatum</i>	4.3a	3.9ab	3.9ab	3.6bc	3.1c
<i>Digitaria decumbens</i>	5.7a	4.4b	3.9b	3.9b	3.9b
	<i>Extracto etéreo, % de la MS</i>				
<i>Braquiaria humidicola</i>	1.6a	1.2b	1.1b	1.1b	1.6b
<i>Cynodon nlemfluensis</i>	1.6a	1.3b	1.3b	1.2b	1.6a
<i>Dichantium aristatum</i>	1.8a	1.5b	1.3b	1.3b	1.5b
<i>Digitaria decumbens</i>	2.2a	1.8ab	1.6b	1.5b	2.2a
	<i>Fibra detergente neutro, % de la MS</i>				
<i>Braquiaria humidicola</i>	77.7a	85b	86b	85.8b	85.3b
<i>Cynodon nlemfluensis</i>	82.7a	86.4b	88.7b	89.3b	88.9b
<i>Dichantium aristatum</i>	78.4a	82.9b	87.1b	86.9b	86.6b
<i>Digitaria decumbens</i>	77.9a	85.2b	86.9b	87.1b	86.7b
	<i>Fibra detergente ácido, % de la MS</i>				
<i>Braquiaria humidicola</i>	38.6a	44b	44.3b	43.3b	43.3b
<i>Cynodon nlemfluensis</i>	47.7a	46.2a	49.9a	48.6a	49.6a
<i>Dichantium aristatum</i>	42.9a	42.2a	45.3ab	47.3b	47.8b
<i>Digitaria decumbens</i>	41.4a	47.3b	48.5b	48.5b	51.8b
	<i>Cenizas, % de la MS</i>				
<i>Braquiaria humidicola</i>	8.7a	6.4b	6.3b	6.5b	6.4b
<i>Cynodon nlemfluensis</i>	9.2a	7.1b	6.5b	6.8b	6.7b
<i>Dichantium aristatum</i>	9.8a	8.3b	6c	6.2c	6.5c
<i>Digitaria decumbens</i>	10.2a	6.1b	6b	5.8b	5.6b
	<i>Extracto libre de nitrógeno, % de la MS</i>				
<i>Braquiaria humidicola</i>	3.7a	2.2b	1.3c	1.1c	1.1c
<i>Cynodon nlemfluensis</i>	3.4a	2.2b	0.9c	0.5c	0.6c
<i>Dichantium aristatum</i>	5.7a	3.4b	1.7c	2c	2.3c
<i>Digitaria decumbens</i>	4a	2.5b	1.6c	1.7c	1.6c

<sup>1</sup>letras distintas en una misma fila, indican diferencias estadísticas entre medias ( $p < 0.05$ )

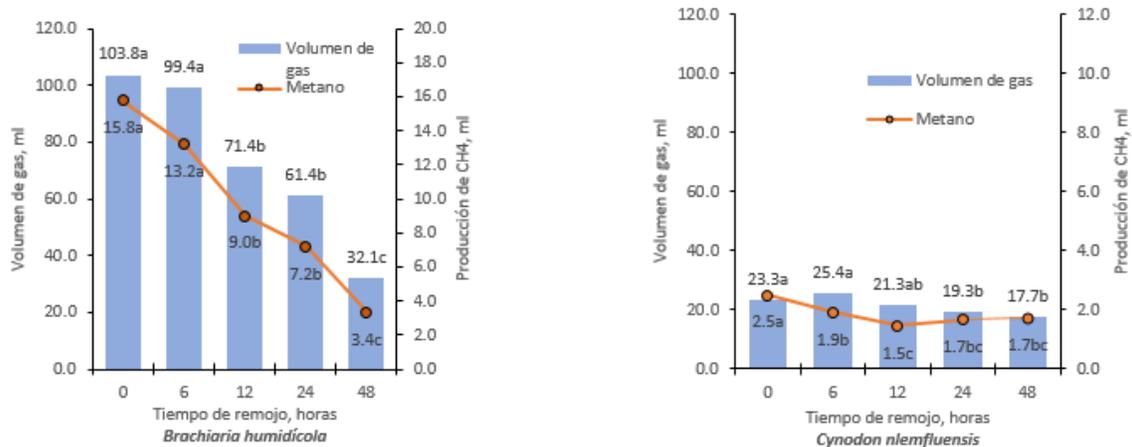
Martinson et al (2012) reportan que la baja solubilidad de calcio (Ca) en el agua, hace con que la concentración de este mineral en el heno permanezca inalterada después del remojo. Por otra parte, el P es fácilmente removido durante el remojo, hecho que implica que la relación Ca: P en el heno se vea alterada con esta práctica. El NRC (2007) recomienda que la relación Ca:P debe estar en el rango 1:1 a 3:1. Estos mismos autores, reportan que después de 12 horas de remojo del heno, la relación Ca:P puede ubicarse en el rango de 8:1 a 10:1 y que animales que consuman este heno pueden experimentar deficiencias de P.

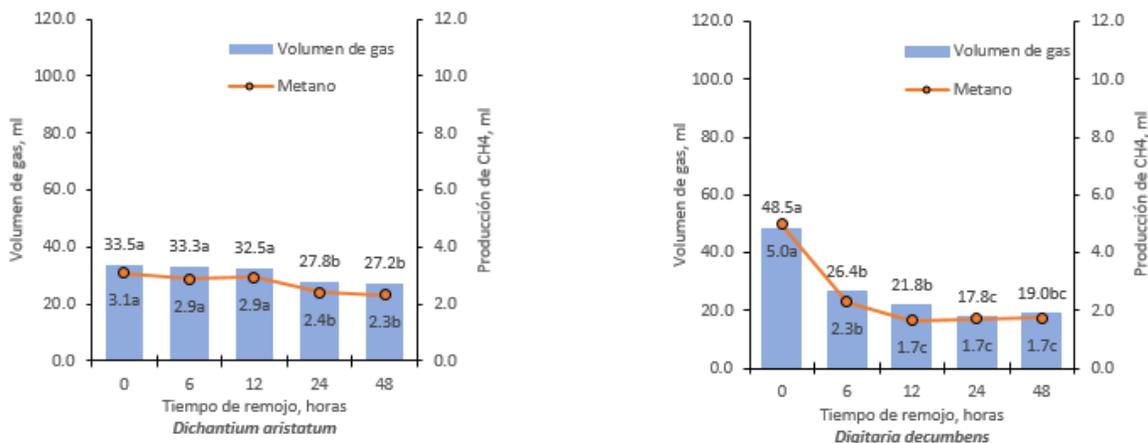


**Figura 1.** Degradación de la MS de henos utilizados en la alimentación de equinos estabulados en los intervalos de incubación (○) 0 – 24 horas y (●) 0 – 48 horas. Letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticas entre medias ( $p < 0.05$ )

El porcentaje de degradación de los henos en los intervalos de incubación 0 – 24 horas y 0 – 48 horas es presentado en la Figura 1. Las gramíneas mostraron diferentes porcentajes de degradación pre-inmersión, donde el *B. humidicola* y el *D. aristatum*, presentaron los mayores porcentajes.

El tiempo de remojo influyó significativamente sobre la degradación de la MS ( $p < 0.05$ ). Los porcentajes de degradación disminuyeron conforme el tiempo de remojo aumento. La causa de este hecho, radica en que el remojo promueve la lixiviación de los componentes solubles del forraje. Noguera et al (2005) manifiestan que la fracción soluble en detergente neutro de los forrajes, tiene un papel importante en el inicio del proceso fermentativo en el rumen, que podría ser similar en las cámaras fermentativas del equino; esta fracción constituye un sustrato energético de rápida fermentación para los microorganismos que facilita los procesos de adhesión y colonización del sustrato. Por otra parte, la concentración de los carbohidratos estructurales con el remojo también habría contribuido a reducir la degradación de la MS.





**Figura 2.** Volumen de producción de gases (ml) y producción de metano (ml) después de 48 horas de incubación *in vitro* de henos sometidos a diferentes tiempos de remojo.

Letras diferentes para una misma variable, indican diferencias estadísticas significativas entre tiempos de remojo para una misma especie de gramínea ( $p < 0.05$ ).

El volumen de gas producido durante el proceso de incubación *in vitro* representa la capacidad de los microorganismos para fermentar el sustrato. El mayor volumen de gas y la mayor producción de metano fueron registrados para el *Brachiaria humicola* (Figura 2); hecho que era esperado, puesto que esta especie presentó la mayor degradación de la MS (Figura 1). En todas las especies evaluadas el remojo provocó una reducción significativa en el volumen de gas producido, sin embargo, esa reducción se observó a diferentes intervalos de tiempo. Por ejemplo, las especies *Dichantium aristatum* y *Cynodon nlemfluencis*, cambios significativos en su dinámica de fermentación se observan después de 12 horas de remojo, en tanto que para el *Digitaria decumbens* y *Brachiaria humidicola*, 6 y 12 horas, respectivamente, parecen ser suficientes para alterar su patrón de fermentación. Estas diferencias entre especies, obedecen a variaciones en la composición química y en la estructura de la pared celular de las plantas.

El remojo del heno es una práctica ampliamente difundida entre los criadores de caballos en Colombia, buscando reducir el riesgo de varios cuadros clínicos, como los desórdenes respiratorios en los caballos tipo ORVA asociados al polvo en el forraje. En este material particulado se incluyen bacterias, esporas de hongos, partículas de plantas y fragmentos de insectos que provocan hipersensibilidad dentro de los pulmones del animal, causando un aumento de la secreción mucosa, tos y una reducida capacidad para el ejercicio (McGorum et al 1993). Igualmente, se ha demostrado ser efectivo para la pérdida de peso en equinos con fenotipo de síndrome metabólico (obesidad, resistencia a insulina y laminitis) (McGowan et al 2013). Sin embargo, tiempos de remojo prolongados remueven gran parte de la PC, carbohidratos no estructurales y cenizas conforme se demostró en este trabajo (Tabla 1), que podrían comprometer el aporte diario de estos nutrientes para el animal.

## Conclusiones

- Durante la implementación de la práctica de remojo del heno, se debe tener en cuenta que tiempos de remojo inferiores a 6 horas son los más recomendados para minimizar las pérdidas de nutrientes por lixiviación. Igualmente, análisis bromatológicos de los henos deben ser considerados, para establecer criterios en el establecimiento de estas prácticas en el trópico.
- Prolongados tiempos de remojo incrementaron las concentraciones de carbohidratos estructurales y redujeron la digestibilidad y los contenidos de proteína y minerales, hecho que podría incidir sobre el consumo de materia seca y el desempeño animal. Aspectos que se deberían controlar o manejar durante la prescripción médica del uso del heno remojado.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Comité para el Desarrollo de la Investigación – CODI (Estrategia Sostenibilidad 2016 – 2017 otorgada al Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias - GRICA) por financiar este trabajo.

## Referencias

- Argo C, Dugdale AH and McGowan CM 2015** Considerations for the use of restricted, soaked grass hay diets to promote weight loss in the management of equine metabolic syndrome and obesity. *Veterinary Journal* 206:170–77.
- AOAC 2005** Official methods of Analysis. 18<sup>th</sup> edition. Association of Analytical Chemist International. Arlington, VA.
- Blackman M and Moore-Colyer M J 1998** Hay for horses: the effects of three different wetting treatments on dust and nutrient content. *Animal Science* 66:745-750.  
[https://www.researchgate.net/publication/231968938\\_Hay\\_for\\_horses\\_The\\_effects\\_of\\_three\\_different\\_wetting\\_treatments\\_on\\_dust\\_and\\_nutrient\\_content](https://www.researchgate.net/publication/231968938_Hay_for_horses_The_effects_of_three_different_wetting_treatments_on_dust_and_nutrient_content)
- Clements JM and Pirie RS 2007** Respirable dust concentrations in equine stables. Part2: the benefits of soaking hay and optimizing the environment in a neighbouring stable. *Research Veterinary Science* 83: 263-268. [http://ac.els-cdn.com/S0034528806002402/1-s2.0-S0034528806002402-main.pdf?\\_tid=9b478628-9a27-11e7-9a05-00000aacb35e&acdnt=1505488236\\_ac6461fd02f3d963311c1383e7e52ebc](http://ac.els-cdn.com/S0034528806002402/1-s2.0-S0034528806002402-main.pdf?_tid=9b478628-9a27-11e7-9a05-00000aacb35e&acdnt=1505488236_ac6461fd02f3d963311c1383e7e52ebc)
- Collins M 1982** The influence of wetting on the composition of alfalfa, red clover, and birdsfoot trefoil hay. *Agronomy Journal*. 74:1041-1044.
- Estrada J 2002** Pastos y forrajes para el trópico colombiano, Manizales, Universidad de Caldas. 202 p.
- Frank N 2011** Equine metabolic syndrome. *Veterinary Clinical Equine*. 27:73–92. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1939-1676.2010.0503.x/epdf>
- Lohmann KL 2007** Management and care of the geriatric horse. *Large Animal Veterinary Rounds*. 7: 1-6.
- Longland AC, Barfoot C and Harris PA 2011** Effects of soaking on the water-soluble carbohydrate and crude protein content of hay. *Veterinary Record* 168: 618.
- López S and Newbold C J 2007** Measuring methane emission of ruminants by *in vitro* and *in vivo* techniques. Pp. 1-13 in *Measuring Methane Production from Ruminants*, edited by Harinder P.S.; Vercoe Makkar, Philip E. (Eds.). Vienna, Austria: Springer  
[http://download.springer.com.ezproxy.unal.edu.co/static/pdf/531/chp%253A10.1007%252F978-1-4020-6133-2\\_1.pdf?auth66=1388028177\\_7bb2a86c26cbe1d2a02c014427e509cf&ext=.pdf](http://download.springer.com.ezproxy.unal.edu.co/static/pdf/531/chp%253A10.1007%252F978-1-4020-6133-2_1.pdf?auth66=1388028177_7bb2a86c26cbe1d2a02c014427e509cf&ext=.pdf)
- Mack SJ, Dugdale H, Argo CM, Morgan RA and McGowan CM 2014** Impact of water-soaking on the nutrient composition of UK hays. *Veterinary Record* 174(18):452.
- McGowan CM, Dugdale AH, Pinchbeck GL and Argo CM 2013** Dietary restriction in combination with a nutraceutical supplement for the management of equine metabolic syndrome in horses. *Veterinary Journal*. 196: 153–159. [http://ac.els-cdn.com/S1090023312004297/1-s2.0-S1090023312004297-main.pdf?\\_tid=bac24406-9a28-11e7-a83f-00000aacb360&acdnt=1505488718\\_41efd37ac12325ab97cd23b52cb394f5](http://ac.els-cdn.com/S1090023312004297/1-s2.0-S1090023312004297-main.pdf?_tid=bac24406-9a28-11e7-a83f-00000aacb360&acdnt=1505488718_41efd37ac12325ab97cd23b52cb394f5)
- Martinson K, Jung H, Hathaway M and Sheaffer C 2012** The effect of soaking on carbohydrate removal and dry matter loss in orchardgrass and alfalfa hays. *Journal of Equine Veterinary Science*. 32:332–338. [http://www.j-evs.com/article/S0737-0806\(11\)00667-8/pdf](http://www.j-evs.com/article/S0737-0806(11)00667-8/pdf)
- Mauricio R M, Mould F L, Dhanoa M S, Owen E, Channa K S and Theodorou M K 1999** A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology* 79: 321-330. [http://ac.els-cdn.com/S0377840199000334/1-s2.0-S0377840199000334-main.pdf?\\_tid=18496ae6-8d9a-11e7-99ae-00000aacb361&acdnt=1504108043\\_f9e8abd4b8c22f24bdc5eb81030c66f1](http://ac.els-cdn.com/S0377840199000334/1-s2.0-S0377840199000334-main.pdf?_tid=18496ae6-8d9a-11e7-99ae-00000aacb361&acdnt=1504108043_f9e8abd4b8c22f24bdc5eb81030c66f1)
- McDougall E I 1948** Studies on ruminant saliva. I. the composition and output of sheep's saliva. *Biochemistry Journal* 43: 99-109.  
<http://www.biochemj.org/content/ppbiochemj/43/1/99.full.pdf>
- McGorum B C, Dixon P M and Halliwell R E W 1993** Responses of horses affected with COPD to inhalation challenges with mould antigens. *Equine Veterinary Journal* 25:261-267.
- Moore-Colyer M J 1996** Effects of soaking hay fodder for horses on dust and mineral content. *Animal Science*.63:337-42.
- Morgan RA, McGowan TW and McGowan CM 2014** Prevalence and risk factors for hyperinsulinaemia in ponies in Queensland, Australia. *Australian Veterinary Journal* 92:101–106. <http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/avj.12159/asset/avj12159.pdf?v=1&t=j7m12pje&s=9b1d2573b2e18f6a1b45d3b1f10f96314b1dbb7b>
- Morgan RA, Keen JA and McGowan CM 2016** Treatment of equine metabolic syndrome: A clinical case series. *Equine Veterinary Journal* 48:422–426. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/evj.12445/epdf>
- Noguera R R, Saliba E O, Gonçalves L C e Mauricio R M 2005** Utilização da técnica de produção de gás para determinar a cinética de fermentação dos carboidratos estruturais e não estruturais em sorgo para forragem. *Livestock Research for Rural Development*. Vol. 17, Art. #53. Retrieved August 30, 2017, from <http://www.lrrd.org/lrrd17/5/nogu17053.htm>
- NRC 2007** National Research Council, Nutrient Requirements of Horses (NRC). 6.ed., 2007. National Academy Press, Washington DC, USA, 341p.
- Posada S L, Noguera R R y Bolívar D M 2006** Relación entre presión y volumen para la implementación de la técnica *in vitro* de producción de gases en Medellín. Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 19: 407-414.  
<http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v19n4/v19n4a06.pdf>

**Robinson LE and Graham TE 2004** Metabolic syndrome, a cardiovascular disease risk factor: Role of adipocytokines and impact of diet and physical activity. *Canadian Journal Application Physiology* 29:808–829. <http://www.nrcresearchpress.com/doi/pdfplus/10.1139/h04-053>

**Van Soest P and Robertson J 1985** Analysis of forages and fibrous foods. Cornell University (NY, EE UU). *Laboratory Manual for Animal Science* No. 613. 165p.

**Watts K 2003** Soaking Hay to Remove Excess Soluble Carbohydrate and Potassium. Retrieved on august 27, 2017. Available at: <http://www.safergrass.org/pdf/SoakReport2.pdf>

*Received 15 September 2017; Accepted 19 January 2018; Published 1 February 2018*

[Go to top](#)