

SUSTAINABILITY & SOCIOECONOMICS

Sustentabilidad y Socioeconomía

SS-118 Rev. Cientif. FCV-LUZ, XXXIII, SE, 165-166, 2023, <https://doi.org/10.52973/rcfcv-wbc040>

Methodological aspects in gastroenteric methane evaluation trial in water buffalo

**Maria Chiara La Mantia, Emanuela Rossi,
Francesco Cenci, David Meo Zilio*, Roberto Steri,
Miriam Iacurto, Antonella Chiariotti**

*Council for Agricultural Research and Economics – Research
Centre for Animal Production and Aquaculture, Rome, Italy*

*Corresponding author: david.meozilio@crea.gov.it

ABSTRACT

Methane (CH₄) is a potent greenhouse gas, and ruminants constitute a significant source of agricultural contributions. It has been hypothesized that the host's genome ultimately controls rumen microbial communities, but numerous samples are needed to achieve robust results. The ease and representativeness of the sampling method and the cost-efficiency of large-scale sequencing will, therefore, be major factors in ensuring the feasibility of a research project. The rationale of this work was to verify if non-invasive samples could be a proxy for ruminal digesta and to validate the concentration registered by a laser methane detector (LMD) at the nostrils by measuring the actual concentration of CH₄ at the rumen cannula immediately after opening. The LMD is a remote CH₄ monitoring system for air used in other ruminants, but studies on buffalo are scarce. The laser beam is pointed toward the source to acquire the data. The trial aimed to compare an easy sampling (1' during a milking session), with a longer and labor-intensive one (5' animals captured in a crash). In five (n=5) cannulated buffalo cows, various matrices (whole rumen content, feces, and buccal swabs) were tested for DNA recovery. Two different Buccal swabs were tested. Frozen solid and liquid rumen fractions, feces as-is, pelleted, or in preserving glycerol solution at room temperature were tested. Different protocols for DNA extraction (WUR protocol; Kit Maxwell® Promega; Kit Quick Extract™ Lucigen) and various sampling methods were compared. Saliva was a difficult matrix to process and did not yield satisfactory DNA, so it is unsuitable as a proxy. Feces showed no difference in preservation methods, and DNA recovery was like the rumen. Nevertheless, metagenomic analysis must be carried out to verify whether the species composition is

Aspectos metodológicos en el ensayo de evaluación de metano gastroentérico en búfalos de agua

**María Chiara La Mantia, Emanuela Rossi,
Francesco Cenci, David Meo Zilio*, Roberto Steri,
Miriam Iacurto, Antonella Chiariotti**

*Consejo de Investigación y Economía Agrícola – Centro de
Investigación sobre Producción Animal y Acuicultura, Roma,
Italia*

*Autor de correspondencia: david.meozilio@crea.gov.it

RESUMEN

El metano (CH₄) es un potente gas de efecto invernadero y los rumiantes son una fuente importante de aportes agrícolas. Se ha planteado la hipótesis de que las comunidades microbianas del rumen están controladas en última instancia por el genoma del huésped, pero se necesitan numerosas muestras para lograr resultados sólidos. Por lo tanto, la facilidad y representatividad del método de muestreo y la rentabilidad de la secuenciación a gran escala serán factores importantes para garantizar la viabilidad de un proyecto de investigación en este campo. El objetivo de este trabajo fue verificar si las muestras no invasivas podrían ser un indicador de la digesta ruminal y validar la concentración registrada por un detector láser de metano (LMD) en las fosas nasales midiendo la concentración real de CH₄ en la cánula ruminal inmediatamente después de su apertura. El LMD es un sistema de monitoreo remoto de CH₄ en el aire, utilizado en otros rumiantes, pero los estudios en búfalos son escasos. El rayo láser apunta hacia la fuente para adquirir los datos. El ensayo tuvo como objetivo comparar un muestreo fácil (1' durante una sesión de ordeño), con uno más largo y laborioso (5' animales capturados en un muestreo). En cinco (5) búfalas canuladas, se analizaron varias matrices (contenido total del rumen, heces e hisopos bucales) para la recuperación de ADN. Se probaron dos hisopos bucales diferentes. Se analizaron fracciones de rumen sólidas y líquidas congeladas, heces tal cual, granuladas o en solución de glicerol conservante a temperatura ambiente. Se compararon diferentes protocolos para la extracción de ADN (protocolo WUR; Kit Maxwell® Promega; Kit Quick Extract™ Lucigen) y varios métodos de muestreo. La saliva era una matriz difícil

comparable. All DNA extraction methods were satisfying: Quick Extract was the easiest to perform, WUR resulted in the highest amount of DNA, and Kit Maxwell was the one that gave the overall best performance. As for the CH₄ measure, there was a significant correlation between the rumen's highest pick value of emission at the cannula and the intensity and duration of breath emission, calculated as breath + eructation. Moreover, we found a highly significant difference in emissions patterns when animals were subjected to distress (confinement, manipulation). LMD showed different emission trends under different sampling conditions, which seems suitable for CH₄ measurement in the buffalo species.

Keywords: Cannulated buffalo, rumen microbiome, DNA extraction, methane emission, laser methane detector.

de procesar y no produjo ADN satisfactorio, por lo que no es adecuada como sustituto. Las heces no mostraron diferencia en cuanto a los métodos de conservación y la recuperación de ADN fue similar al rumen; sin embargo, se debe realizar análisis metagenómicos para verificar si la composición de especies también es comparable. Todos los métodos de extracción de ADN fueron satisfactorios: Quick Extract fue el más fácil de realizar, WUR dio como resultado la mayor cantidad de ADN y Kit Maxwell fue el que brindó el mejor rendimiento general. En cuanto a la medida de CH₄, hubo una correlación significativa entre el valor más alto de emisión del rumen en la cánula y la intensidad y duración de la emisión de aire, calculada como aliento + eructos. Además, encontramos una diferencia muy significativa en los patrones de emisiones cuando los animales fueron sometidos a angustia (confinamiento, manipulación, etc.). LMD mostró diferentes tendencias de emisión bajo diferentes condiciones de muestreo, por lo que parece adecuado para la medición de CH₄ en la especie de búfalo.

Palabras clave: búfalo canulado, microbioma ruminal, extracción de ADN, emisión de metano, detector láser de metano.