

Niveles de amonio ruminal en novillos que pastorean gramíneas solas o asociadas con leguminosas de calidad nutritiva contrastante*

D. Hess, C. E. Lascano y C. Plazas**

Introducción

La escasa productividad animal obtenida en las sabanas de América tropical se debe, principalmente, a la baja calidad de las especies predominantes (Alvarez y Lascano, 1987). Para mejorar esta condición, el Programa de Forrajes Tropicales del CIAT ha seleccionado varias gramíneas y leguminosas adaptadas a suelos ácidos de las sabanas tropicales. Estas especies se evalúan con animales en pastoreo para determinar la ganancia de peso de éstos y la calidad nutritiva del forraje en oferta y de la dieta seleccionada.

En trabajos anteriores se han encontrado ganancias de peso similares en animales que pastoreaban *Brachiaria humidicola* sola o asociada con *Desmodium ovalifolium*; en contraste, los animales que pastoreaban *B. humidicola-Arachis pintoi* o *B. dictyoneura-A. pintoi* ganaron más peso que los animales que pastoreaban la gramínea sola (CIAT, 1991). Parte de esta diferencia estaría asociada con la baja degradabilidad en el rumen de la proteína de *D. ovalifolium*, a causa de su alto contenido de taninos; este efecto no se observa con *A. pintoi*

(CIAT, 1991). Los taninos pueden sobreproteger la proteína de la dieta contra la fermentación en el rumen (Salunkhe et al., 1989) y perjudicar, en consecuencia, la actividad microbiana por deficiencia de amonio.

El presente ensayo tuvo dos objetivos: medir los niveles de amonio ruminal en novillos que pastoreaban gramíneas solas o asociadas con leguminosas con taninos y sin ellos, y establecer la relación existente entre el amonio ruminal y el nivel de proteína cruda (PC) en la dieta seleccionada.

Materiales y métodos

Localización. El ensayo se realizó en un Oxisol Haplustox típico del Centro de Investigación ICA-CIAT Carimagua, localizado en el ecosistema de sabana isohipertérmica bien drenada, a 4° 37' de latitud norte y a 71° 13' de longitud oeste, a 175 m.s.n.m. La temperatura media anual es de 26 °C y la precipitación anual es, en promedio, de 2300 mm, distribuida entre abril y noviembre.

Pasturas evaluadas. En 1991, al inicio de las lluvias, se escogieron para el ensayo cuatro pasturas de 1 ha, subdivididas en dos potreros de 0.5 ha cada uno. Las pasturas eran de *B. humidicola* y *B. dictyoneura*, solas y asociadas con *D. ovalifolium* y *A. pintoi*, distribuidas en los tratamientos siguientes: T1 = *B. humidicola*; T2 = *B. humidicola-D. ovalifolium*; T3 = *B. dictyoneura*; y T4 = *B. dictyoneura-A. pintoi*.

* Trabajo realizado por el autor principal durante su permanencia en el CIAT como investigador visitante en el Programa de Forrajes Tropicales.

** Respectivamente: investigador de la Universidad de Zurich, Suiza, jefe, y asistente de la sección de Nutrición de Rumiantes y Calidad de Forrajes del Programa de Forrajes Tropicales del CIAT, Apartado aéreo 6713, Cali, Colombia.

Diseño experimental y manejo de los animales. Se utilizó un diseño reversible ("crossover") 4 x 4 en bloques completos. Se utilizaron cuatro grupos de dos novillos que pasaron por cada uno de los cuatro tratamientos. El pastoreo consistió en 4 días de acostumbamiento en el primer potrero (0.5 ha), seguidos de 3 días de medición en el segundo potrero (0.5 ha) de cada tratamiento.

Mediciones con los animales

En el experimento se emplearon ocho novillos fistulados en el esófago y en el rumen, cuyo peso vivo estaba entre 340 y 540 kg; los novillos tuvieron acceso al agua y a sal mineralizada a voluntad.

Nivel de amonio en el rumen. Cada día de medición se tomaron, de cada animal, cuatro muestras de líquido ruminal de 44 ml cada una, así: a las 08:00, 11:00, 14:00 y 16:00 horas. A estas muestras, ya filtradas, se adicionaron 2 ml de ácido sulfúrico concentrado. Después de permanecer congeladas, se centrifugaron, y el contenido de amonio en el líquido ruminal se determinó por el método de Kjeldahl, sin digestión previa.

Selectividad y calidad de la dieta. La composición botánica de la dieta seleccionada se determinó al final del período de medición, empleando novillos sometidos a ayuno previo. De cada muestra de extrusa recolectada se utilizó una parte para estimar esa composición botánica. La proporción de la gramínea y de la leguminosa seleccionadas se determinó mediante la observación de 100 puntos utilizando un estereoscopio (Heady and Torrel, 1959). En la porción restante de la muestra se determinó la proteína cruda (PC).

Mediciones en las pasturas

Disponibilidad de forraje y composición botánica. La disponibilidad del forraje y la calidad de las pasturas se midieron al inicio de cada período de pastoreo. Para el efecto se tomaron, en cada pastura, 10 muestras con un marco de 1 m². El forraje dentro de cada marco se cosechó a 2 cm sobre el suelo, y se separó la gramínea de la leguminosa. Estos componentes se secaron para estimar la cantidad y la proporción de cada uno de ellos en las pasturas.

Calidad del forraje en oferta. En la fase de medición se tomaron muestras de las pasturas en forma manual, simulando el bocado de los animales ("pluck"). En estas muestras se separaron las hojas de los tallos y se secaron a 60 °C durante 48 horas, para determinar posteriormente en ellos el contenido de PC.

Resultados y discusión

Disponibilidad de forraje. La disponibilidad de las gramíneas y de las leguminosas se presenta en el Cuadro 1. La pastura de *B. humidicola*-*D. ovalifolium* presentó la menor ($P < 0.01$) disponibilidad de la gramínea con respecto a las demás pasturas. En las asociaciones con leguminosas, la disponibilidad de *D. ovalifolium* (T2) fue mayor ($P < 0.01$) que la disponibilidad de *A. pintoii* (T4). En consecuencia, la proporción de la leguminosa en oferta en *B. humidicola* fue mayor (95%) que en *B. dictyoneura* (42%). Esto se reflejó en una mayor proporción de *D. ovalifolium* (88%) que de *A. pintoii* (36%) en la dieta seleccionada por los novillos en pastoreo.

Calidad del forraje y de la dieta seleccionada. En el Cuadro 2 se presenta el nivel de PC del forraje en oferta y de la dieta seleccionada. Como era de esperarse, las gramíneas asociadas con leguminosas presentaron mayor contenido de PC que las gramíneas solas. En estas últimas el contenido de PC en la gramínea en oferta y en la dieta seleccionada fue menor de 7%, nivel considerado por Milford and Minson (1967) como limitativo para el consumo de forraje por los animales. En contraste, el contenido de PC en la gramínea en oferta y en el forraje seleccionado en las asociaciones, estuvo por encima del nivel considerado crítico.

Cuadro 1. Disponibilidad de materia verde seca de gramíneas y leguminosas en pasturas asociadas.

Tratamiento (pastura)	Gramínea (kg/ha)	Leguminosa (kg/ha)
1. <i>B. humidicola</i>	523a	—
2. <i>B. humidicola</i> - <i>D. ovalifolium</i>	107b	1908a
3. <i>B. dictyoneura</i>	772a	—
4. <i>B. dictyoneura</i> - <i>A. pintoii</i>	637a	460b
Probabilidad	0.001	0.01

Cuadro 2. Proteína cruda en el forraje en oferta y en la dieta seleccionada, y su relación con el amonio ruminal en novillos que pastoreaban asociaciones de gramíneas solas o asociadas con leguminosas.

Tratamiento (pastura)	Proteína cruda (%)			NH ₃ -N en rumen (mg/lit)
	Gram.	Leg.	Dieta	
1. <i>B. humidicola</i>	6.4c	—	5.7d	32.6d
2. <i>B. humidicola-D. ovalifolium</i>	9.4a	12.2	11.8a	56.5c
3. <i>B. dictyoneura</i>	6.6bc	—	6.8c	64.0b
4. <i>B. dictyoneura-A. pintoii</i>	8.6ab	18.2	10.4b	134.3a
Probabilidad	0.01	0.05	0.001	0.01

El nivel de PC en la dieta seleccionada fue mayor ($P < 0.001$) en *B. humidicola-D. ovalifolium* que en *B. dictyoneura-A. pintoii*. Esto se relacionó con una mayor proporción de *D. ovalifolium* en la dieta seleccionada.

Niveles de amonio ruminal. En el Cuadro 2 se presentan los niveles de amonio en el rumen de los animales que pastoreaban las cuatro pasturas.

En *B. humidicola-D. ovalifolium* el contenido de PC en la dieta presentó el mayor valor entre todos los tratamientos, pero los niveles de amonio en el rumen fueron menores ($P < 0.001$) a aquéllos encontrados en *B. dictyoneura* sola y asociada con *A. pintoii*. En la pastura de *B. humidicola*, el nivel de amonio ruminal fue extremadamente bajo, lo cual estuvo asociado a su bajo nivel de PC, tal como se ha observado en otros estudios (Hoyos y Lascano, 1985).

La correlación entre el nivel de amonio ruminal y el contenido de PC en la dieta fue baja ($r = 0.48^*$) al considerar todas las pasturas, pero al excluir la asociación *B. humidicola-D. ovalifolium* la correlación aumentó ($r = 0.92^{**}$). Se deduce de esto que la baja degradabilidad de la proteína de *D. ovalifolium*, asociada con su alto contenido de taninos, afectó en forma negativa el nivel de amonio ruminal en los animales que consumían esa leguminosa.

Los niveles de amonio ruminal de los novillos que pastoreaban las asociaciones con leguminosas y los potreros de *B. dictyoneura*

fueron superiores a 50 mg/lit de NH₃-N; únicamente en *B. humidicola* se encontraron niveles inferiores a este valor, el cual se ha considerado crítico para la digestión y la síntesis in vitro de la proteína bacteriana (Satter and Slyter, 1974). Sin embargo, en la literatura se presentan valores críticos de amonio ruminal para digestión de forrajes toscos hasta de 250 mg/lit de NH₃-N (Boniface et al., 1986; Leng, 1990). Por otra parte, se ha sugerido (Leng, 1990) que para maximizar el consumo de dietas altas en fibra y bajas en proteína, tal como los residuos de cosecha, el nivel de amonio ruminal debe ser aproximadamente de 200 mg/lit de NH₃-N.

En general, niveles bajos de nitrógeno fermentable inciden en forma negativa en el consumo de forraje, debido a una reducción en la tasa de fermentación en el rumen (Campling et al., 1962). Es posible que los niveles de amonio ruminal obtenidos de las gramíneas solas y de la asociación con *D. ovalifolium* hayan sido marginales en este estudio. En cambio, en la asociación con *A. pintoii*, el nivel de amonio ruminal fue relativamente alto (134 mg/lit de NH₃-N), resultado que explicaría, en parte, las altas ganancias de peso que se obtienen en las pasturas en que se asocia esta leguminosa (CIAT, 1991).

Aspectos metodológicos. El nivel de amonio ruminal podría utilizarse para evaluar aspectos de nutrición proteica de animales en pastoreo. Es necesario conocer entonces el tiempo de ajuste o acostumbramiento que debe darse a los animales antes de tomar las muestras de líquido ruminal. En este estudio se encontró que el nivel de amonio ruminal fue menor el primer día en comparación con los días 2 y 3 de medición (Cuadro 3). Esto se debió, probablemente, a un período insuficiente de acostumbramiento de los animales en las pasturas; en consecuencia, este período sería, al parecer, mayor que los 4 días que se dieron en este estudio.

Para tomar las muestras en los animales en pastoreo, es importante además determinar la variación diurna de los niveles de amonio ruminal. Fue evidente en este estudio que estos niveles tendieron a ser mayores en las horas de la tarde que en las de la mañana (Cuadro 3); por lo tanto, sería conveniente tomar muestras de líquido ruminal en varias horas del día durante la fase de medición.

Cuadro 3. Variación diaria de $\text{NH}_3\text{-N}$ (mg/lit) en novillos fistulados que pastoreaban gramíneas y leguminosas asociadas.

Día	$\text{NH}_3\text{-N}$	Hora	$\text{NH}_3\text{-N}$
1	64.9b*	08:00	65.5b*
2	72.6a	11:00	69.8b
3	74.9a	14:00	75.4a
		16:00	71.4ab

* Probabilidad (valores de $\text{NH}_3\text{-N}$ por día) = 5%

* Probabilidad (valores de $\text{NH}_3\text{-N}$ por hora) = 7%.

Conclusiones

Los niveles de amonio ruminal de animales en pasturas solas y en pasturas asociadas gramínea-leguminosa variaron con el nivel de PC en la dieta seleccionada y con la especie de leguminosa en la pastura. La correlación entre el nivel de amonio ruminal y la PC en la dieta fue alta y positiva cuando se consideraron las pasturas de la gramínea sola (*B. humidicola* y *B. dictyoneura*) y la pastura de *B. dictyoneura* asociada con *A. pintoii*.

En la asociación de *B. humidicola* con *D. ovalifolium*, una leguminosa alta en taninos, los niveles de proteína en la dieta seleccionada fueron altos, pero no se reflejaron en los niveles de amonio del rumen, resultado que contrasta con lo observado en la asociación con *A. pintoii*. Se concluye que el nivel de PC en la dieta de los animales en pastoreo es un buen indicativo del nivel de nitrógeno fermentable en el rumen, cuando se evalúan pasturas que contienen gramíneas solas y asociadas con leguminosas sin taninos.

En asociaciones con leguminosas altas en taninos se debería medir el amonio ruminal, para determinar la contribución de éste a la nutrición de los animales. La escasa respuesta en producción animal observada en las asociaciones con *D. ovalifolium* podría estar, en parte relacionada, con la deficiencia de nitrógeno fermentable en el rumen.

Summary

In 1989 and 1990 at the ICA-CIAT Carimagua Research Center, the level of rumen ammonia was measured in steers grazing pastures of *Brachiaria dictyoneura* alone and associated with

Arachis pintoii, and *B. humidicola* alone and associated with *Desmodium ovalifolium*. A 4 x 4 crossover design with complete blocks was used. Grazing in each period consisted of 4 days of adjustment followed by 3 days of measurement.

Eight esophageal-rumen fistulated steers were used. To determine rumen ammonia, liquid samples were taken at 8 and 11 a.m. and 2 and 4 p.m. Botanical composition and quality of the diet selected were determined at the end of the measurement period, and forage availability and quality were measured at the beginning of each grazing period.

The levels of rumen ammonia of animals in pastures alone and in grass-legume associations varied with the level of crude protein (CP) in the diet selected and with the legume species in the pasture. The correlation between the level of rumen ammonia and CP in the diet was high and positive ($r = 0.92^{**}$) when the pastures of the grass alone (*B. humidicola* and *B. dictyoneura*) and the pasture of *B. dictyoneura* associated with *A. pintoii* were considered.

In the association of *B. humidicola* with *D. ovalifolium*, a legume high in tannins, the levels of protein in the diet selected was high (11.8%), but was not reflected in the levels of rumen ammonia (56.5 mg/lit of $\text{NH}_3\text{-N}$). Thus result contrasts with that observed in the *A. pintoii* association (10.4% CP and 134 mg/lit of $\text{NH}_3\text{-N}$).

We concluded that the level of CP in the grazing animals' diet is a good indicator of the level of fermentable nitrogen in the rumen when pastures that contain grasses alone and legumes without tannins are evaluated. In associations with legumes high in tannins, rumen ammonia should be measured to determine its contribution to the nutrition of the animals.

Referencias

- Alvarez, A. y Lascano, C. E. 1987. Valor nutritivo de la sabana bien drenada de los Llanos Orientales de Colombia. Pasturas tropicales-boletín 9(3):9-12.
- Boniface, A. N.; Murray, R. M. and Hogan, J. P. 1986. Optimum level of ammonia in the rumen liquor of cattle fed tropical pasture hay. Proc. Aust. Soc. Anim. Prod. 16:151-154.

- Campling, R. C., Freer, M. and Balch, C. C. 1962. Factors affecting the voluntary intake of food by cows; 3: The effect of urea on the voluntary intake of oat straw. *Br. J. Nutr.* 16(1):115.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 1983. Calidad de pasturas y nutrición de rumiantes. En: Programa de Pastos Tropicales, Informe Anual 1983. Cali, Colombia. p. 253-276.
- _____. 1991. Tropical Pastures Program. Annual Report 1987-1991. Cali, Colombia.
- Heady, H. F. and Torrel, D. T. 1959. Forage preference exhibited by sheep with esophageal fistulas. *J. Range Manage.* 12:28.
- Hoyos, P. y Lascano, C. 1985. Calidad de *Brachiaria humidicola* en pastoreo en un ecosistema de bosque semi-siempre verde estacional. *Pasturas tropicales-boletín* 7(2):3-5.
- Leng, R. A. 1990. Factors affecting the utilization of poor quality forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutr. Res. Rev.* 3:277.
- Milford, R. and Minson, D. J. 1967. The voluntary intake and digestibility of diets containing different proportions of legume and mature pangola grass (*Digitaria decumbens*). *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 7:546-551.
- Salunkhe, D. K.; Chavan, J. K. and Kadam, S. S. 1989. Dietary tannins: Consequences and remedies. Interactions with starch and protein. CRC Press, FL. 200 p.
- Satter, L. D. and Slyter, L. L. 1974. Effects of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *Br. J. Nutr.* 32:199.