

## Degradación de nutrientes y emisión de gases al fermentar ensilaje y heno de *Calliandra calothyrsus* y *Vigna unguiculata* en el Sistema Rusitec

L. Bernal<sup>1</sup>, P. Avila<sup>2,3</sup>, G. Ramírez<sup>2,4</sup>, C. E. Lascano<sup>2,5</sup>, T. Tiemann<sup>6</sup>, y H. Hess<sup>7</sup>

Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. Zoot. Est. Maestría  
Ciencias Agrarias Producción Animal Tropical.  
Recibido Diciembre 20, 2007. Aceptado Agosto 1, 2008.

### Degradation of nutrients and production of gases upon fermenting silage and hay of *Calliandra calothyrsus* and *Vigna unguiculata* in the Rusitec System

**ABSTRACT.** The Rusitec System was used to evaluate apparent *in vitro* degradation of organic matter (OM), crude protein (CP), neutral and acid detergent fibers (NDF, ADF), and production of methane and ammonia in silage and hay of two legumes, tannin-containing, *Calliandra calothyrsus* and, non-tanniferous, *Vigna unguiculata*, and mixtures of both legumes. There were eight experimental treatments, each replicated four times, in a randomized complete-blocks design. The four treatments based on silages were: T1, *Calliandra* 100%; T2, *Vigna* 100%; T3, *Calliandra/Vigna* 67/33%; T4, *Vigna/Calliandra* 67/33%; and in analogous fashion the four treatments based on hays, T5, T6, T7, and T8. Analysis of initial chemical composition showed lower CP content in the silage than in the hay of both legumes; higher NDF and ADF in silage than in hay of *Calliandra*, but the reverse situation in *Vigna*. *Calliandra* hay was much higher in tannin content than the silage. In OM and CP degradability, silages surpassed hays and *Vigna* surpassed *Calliandra*; production of CH<sub>4</sub> and NH<sub>3</sub> followed the same pattern. Degradabilities of NDF and ADF were lower in *Calliandra* and its 67% mixtures, for which even some negative values were obtained. The possible use of *Calliandra* in appropriate proportions to protect dietary proteins from ruminal degradation, thus becoming bypass protein, is suggested.

**Key words.** *Calliandra calothyrsus*, Methane production, Nutrients degradation, Rusitec, Tannins, *Vigna unguiculata*

**RESUMEN.** Se evaluó la degradación aparente *in vitro* de la materia orgánica (MO), proteína cruda (PC) y fibras detergentes neutro y ácido (FDN, FDA) y la producción de metano y amonio en ensilajes y henos de dos leguminosas, una con taninos, (*Calliandra calothyrsus*) y otra sin taninos (*Vigna unguiculata*), y mezclas de las dos, en el sistema Rusitec. Hubo ocho tratamientos experimentales, cada uno con cuatro repeticiones en un diseño de bloques completos al azar. Los cuatro tratamientos a base de ensilados fueron: T1, *Calliandra* 100%; T2, *Vigna* 100%; T3, *Calliandra/Vigna* 67/33%; T4, *Vigna/Calliandra* 67/33%; y a modo análogo fueron los tratamientos a base de henos, T5, T6, T7, y T8. Análisis de la composición química inicial mostró menor contenido de PC en los ensilajes que en los henos de ambas leguminosas y

<sup>1</sup> Autor para la correspondencia, e-mail: [lcbernalb@palmira.unal.edu.co](mailto:lcbernalb@palmira.unal.edu.co), Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. Zoot. Est. Maestría Ciencias Agrarias Producción Animal Tropical.

<sup>2</sup> Programa Leguminosas y Forrajes Tropicales. Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT. Cali Colombia

<sup>3</sup> Jefe de Laboratorio de Calidad de Forrajes. CIAT. Email: [p.avila@cgiar.org](mailto:p.avila@cgiar.org)

<sup>4</sup> Estadista. CIAT Email: [g.ramirez@cgiar.org](mailto:g.ramirez@cgiar.org)

<sup>5</sup> Líder Programa de Leguminosas y Forrajes Tropicales. CIAT. Email: [c.lascano@cgiar.org](mailto:c.lascano@cgiar.org)

<sup>6</sup> Candidato a PhD. ETH Zurich, Instituto de Producción Animal, ETH-Centro/LFW, CH-8092. Zurich, Suiza.

<sup>7</sup> Agroscope Liebefeld-Posieux, Estación de Investigación en Producción Animal y productos Lácteos, CH-1725 Posieux, Suiza.

mayor contenido de FDN y FDA en el ensilaje que en el heno de *Calliandra* pero la situación inversa en *Vigna*. Heno de *Calliandra* presentó mucho mayor contenido de taninos que el ensilaje. La degradabilidad de MO y PC fue mayor en los ensilajes que en los henos y mayor en *Vigna* que en *Calliandra*; y así también la producción de CH<sub>4</sub> y NH<sub>3</sub>. La degradabilidad de FDN y FDA fue menor en *Calliandra* y mezclas con 67% de ésta, obteniéndose hasta algunos valores negativos. Se sugiere el posible uso de *Calliandra* en proporciones apropiadas, para proteger proteínas dietéticas contra la degradación ruminal, convirtiéndose así en proteína de sobrepaso.

**Palabras clave.** *Calliandra calothyrsus*, Degradación de nutrientes, Producción de metano, Rusitec, Taninos, *Vigna unguiculata*

## Introducción

Una alternativa muy conocida para la alimentación de ganado en la época seca es la de conservar forraje en la forma de ensilaje o heno. Sin embargo, uno de los problemas que se presenta en la conservación de forrajes en forma de ensilaje es el de pérdidas de nitrógeno en el proceso de fermentación sobre todo con especies de leguminosas con proteína altamente degradable. Dado que los taninos presentes en algunas leguminosas tropicales tienden a proteger la proteína dietética de la degradación, se consideró que una alternativa para reducir estas pérdidas de nitrógeno en el proceso de ensilaje sería la de ensilar mezclas de diferentes leguminosas con y sin taninos. Asimismo, la inclusión de leguminosas taniníferas podría generar un efecto positivo adicional en la producción animal, al disminuir la producción de metano, que es un gas con potente efecto invernadero y que contribuye con el 18% del calentamiento global antropogénico, superado sólo por el CO<sub>2</sub> (Montenegro y Abarca, 2002). La liberación de grandes cantidades de metano afecta la capa de ozono en la atmósfera (Carmona *et al.*, 2005). Si bien los bovinos disponen de un sistema digestivo que tiene la capacidad de aprovechar y convertir material fibroso en alimentos de alta calidad, carne y leche, para consumo humano, por sus características innatas, este mismo sistema digestivo también produce metano.

Afortunadamente, es factible reducir las emisiones de metano en la ganadería y además, en la mayoría de los casos, los productores pueden incrementar sus ingresos por el mejoramiento del desempeño animal. Adicionalmente, con mayores niveles de producción animal, se precisa emplear

menos animales para producir la misma cantidad de producto, esto significa que la emisión de metano por unidad de producto obtenido será menor. Así se emitiría menos cantidad de metano en la producción de carne y leche. Además, se necesitaría menos terreno dedicado a la ganadería, y dependiendo del uso potencial de los suelos en cuestión, el área liberada podría ser dedicada a cultivos, a la plantación de especies arbóreas, o bien se podría destinar como área de conservación (Montenegro y Abarca, 2002).

Otra medida importante para reducir estas emisiones gaseosas es el uso de pastura de mejor calidad nutricional. Una opción de creciente uso es la de los sistemas silvopastoriles, pero poco se ha investigado sobre su efecto en la producción de metano ruminal. Para determinar las emisiones de este gas y las eficiencias de las tecnologías implementadas se precisan metodologías apropiadas que permitan extrapolar los resultados a las condiciones reales *in vivo*. Dentro de estas alternativas el Sistema RUSITEC se constituye en una opción que presenta altas correlaciones con las características digestivas del animal, que permite evaluar especies forrajeras en corto tiempo y sin efectos adversos sobre el ambiente, ya que es un sistema semicontinuo que genera poca cantidad de efluentes.

El objetivo de este ensayo fue evaluar en el sistema RUSITEC el efecto de algunas mezclas de las leguminosas *Calliandra calothyrsus* y *Vigna unguiculata* henificadas y ensiladas sobre parámetros de fermentación ruminal, degradabilidad aparente de materia orgánica, proteína y fibras y producción de amonio y metano.

## Materiales y Métodos

Las especies forrajeras seleccionadas, *C. calothyrsus* y *V. unguiculata* se evaluaron en el sistema de simulación ruminal Rusitec, que fue

desarrollado por Czerkawski y Breckenridge (1977) y modificado por Machmuller *et al.* (2002). En éste se simulan las actividades fisiológicas de

la digestión fermentativa ruminal, mas no las de la absorción de nutrientes.

#### **Dietas experimentales**

Las dos especies, *C. calothyrsus* y *V. unguiculata*, se evaluaron en ocho tratamientos y con cuatro repeticiones por tratamiento, siendo éstos: T1, ensilaje *Calliandra* 100%; T2, ensilaje *Vigna* 100%; T3, ensilaje *Calliandra/Vigna* 67/33%; T4, ensilaje *Vigna/Calliandra* 67/33%; T5, heno *Calliandra* 100%; T6, heno *Vigna* 100%; T7, heno *Calliandra/Vigna* 67/33% y T8, heno *Vigna/Calliandra* 67/33%.

#### **Análisis de las muestras**

Se analizaron muestras de los forrajes iniciales de T1 a T8 y de los residuos de los mismos presentes en las bolsas luego de la digestión fermentativa, para los contenidos de materia seca (MS), material orgánico (MO) proteína cruda (PC), fibra detergente neutro y

ácido (FDN, FDA) y celulosa (AOAC), lo que permitió calcular la degradación aparente de estas fracciones. La concentración de taninos condensados en *Calliandra* y sus mezclas (T1, T3, T4, T5, T7 y T8) se determinó por el método de butanol-HCl (Reed, 1995). La concentración de metano en los gases emitidos durante la fermentación se midió por cromatografía de gases (Carmona *et al.*, 2005). Diariamente durante la fermentación se le extrajo a cada fermentador 8 ml de líquido ruminal para determinar las variables de control: pH, potencial redox (con un potenciómetro) y el recuento de microorganismos (bacterias y protozoos).

#### **Diseño experimental**

Se utilizó el diseño de bloques completos al azar para analizar las variables mediante el paquete estadístico SAS versión 9.1 (SAS, 2003).

## **Resultados y Discusión**

La composición bromatológica inicial de los forrajes experimentales evaluados en el Sistema Rusitec aparece en el Cuadro 1.

#### **Efectos sobre la composición química**

Los valores más altos de MO corresponden a *Calliandra* ensilada y henificada (T1 y T5). Se observó una disminución en el contenido de proteína de las leguminosas *Calliandra* y *Vigna* ensiladas comparadas con el heno. El proceso de ensilar aumentó las concentraciones FDN y FDA en *Calliandra*, pero al contrario en *Vigna*. El contenido de celulosa no presentó diferencia significativa ( $P < 0.05$ )

La composición bromatológica de *Calliandra* henificada coincide con lo informado por Valencia (2003) para las fracciones MO, FDN y taninos, pero no para PC, FDA y celulosa, siendo

los valores del presente ensayo más altos. Esto podría deberse a la accesión utilizada, CIAT 22310 y CIAT 22316 en este y aquel ensayo, respectivamente. Los contenidos de MO y PC coinciden con los hallazgos de Monsalve (2003), pero no así los de FDN, FDA y celulosa, cuyos valores presentes son más bajos, debido probablemente a la accesión utilizada en ambos casos. Las leguminosas *Vigna* y *Calliandra* sufrieron pérdidas de nitrógeno por el proceso de ensilar y esto no se evitó al usar las mezclas de leguminosas con y sin taninos, posiblemente debido a la falta de un presecado de los follajes antes de ser ensilados.

#### **Degradación de fracciones químicas**

La degradación de MO fue más alta en las leguminosas ensiladas que en las henificadas

Cuadro 1. Composición bromatológica porcentual de los forrajes experimentales ensilados y henificados

Tratamiento	MO	PC	FDN	FDA	Celulosa	Taninos totales
T1 Ensilaje <i>Calliandra</i> 100%	93.4 <sup>b</sup>	14.8 <sup>b</sup>	55.2 <sup>a</sup>	51.9 <sup>a</sup>	33.3	2.95
T2 Ensilaje <i>Vigna</i> 100 %	89.1 <sup>d</sup>	13.2 <sup>c</sup>	38.4 <sup>b</sup>	30.0 <sup>c</sup>	26.4	-
T3 Ensilaje <i>Calliandra/Vigna</i> 67/33%	90.6 <sup>c</sup>	12.8 <sup>c</sup>	43.1 <sup>b</sup>	40.1 <sup>b</sup>	29.4	1.97
T4 Ensilaje <i>Vigna i/Calliandra</i> 67/33%	90.9 <sup>c</sup>	13.5 <sup>c</sup>	39.8 <sup>b</sup>	37.1 <sup>b</sup>	28.7	0.97
T5 Heno <i>Calliandra</i> 100%	94.7 <sup>a</sup>	15.7 <sup>ab</sup>	41.4 <sup>b</sup>	39.8 <sup>b</sup>	31.7	23.00
T6 Heno <i>Vigna</i> 100%	88.2 <sup>e</sup>	16.1 <sup>ab</sup>	41.1 <sup>b</sup>	36.4 <sup>b</sup>	30.4	-
T7 Heno <i>Calliandra/Vigna</i> 67/33%	90.2 <sup>c</sup>	15.9 <sup>ab</sup>	42.5 <sup>b</sup>	39.8 <sup>b</sup>	31.6	15.41
T8 Heno <i>Vigna/Calliandra</i> 67/33%	93.2 <sup>b</sup>	16.3 <sup>a</sup>	43.6 <sup>b</sup>	39.9 <sup>b</sup>	30.5	7.59

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ )

(Cuadro 2) y mayor para ensilaje y heno de *Vigna* (T2 y T6) en comparación con *Calliandra* (T1 y T5). Esto es consistente con la menor degradabilidad de la MO en las mezclas con mayores proporciones de *Calliandra*. La degradación de PC de los ensilajes fue consistentemente mayor que la de los henos (32.2 vs 20.3%) similar a lo observado con MO. Por otra parte, la degradabilidad de la PC fue mayor con *Vigna* que con *Calliandra*.

La degradación de FDN y FDA tuvo la misma tendencia de la degradación de PC, siendo mayor para *Vigna* y sus mezclas que para *Calliandra*. Se presentaron varios valores de degradación negativa para *Calliandra* sola y en mezcla. Se explican estos valores negativos por el hecho que, de acuerdo con Makkar (2003), los taninos no pueden ser hidrolizados por los microorganismos del rúmen. Además, los taninos libres son tan reactivos que se unen a fracciones de la proteína o de la fibra y por eso interfieren con la determinación cuantitativa de FDN y FDA en los residuos de Rusitec o en las heces de rumiantes y así se obtienen valores considerablemente más altos de lo verídico (Degen *et al.*, 1995). Es decir, que las extracciones que se hacen con las soluciones detergentes no logran determinar con exactitud los valores de fibra o la degradabilidad de los constituyentes de la pared celular, ya que los complejos taninos-proteínas son recuperados indebidamente en las fracciones de fibra (Makkar y Becker, 1997).

En comparación con los resultados presentes, Valencia (2003) encontró menores degradaciones de MO por *Calliandra* 100% y a 75% en mezcla.

#### Características del líquido ruminal

No se encontró variación significativa en las variables de control del sistema Rusitec, pH y

potencial redox, las cuales se mantuvieron dentro de límites normales.

#### Efectos sobre la producción de metano y amonio

Las emisiones de metano fueron mayores para ensilajes que para los henos (49.3 mmol/L contra 40.6 mmol/L). *Vigna* 100% produjo más metano que *Calliandra* (3.2 mmol/g contra 0.36 mmol/g). A pesar de su magnitud, estas diferencias entre tratamientos no fueron significativas ( $P > 0.05$ ). Valencia (2003) encontró emisiones de metano coincidentes con los presentes para *Calliandra* 100%, pero discrepantes para su tratamiento de 75% de inclusión.

La concentración de amonio difirió entre los tratamientos. *Vigna* 100% ensilada presentó la mayor producción de amonio y *Calliandra* 100% ensilada y henificada las producciones más bajas. (Cuadro 3). A medida que aumentó el nivel de inclusión de *Vigna* ensilada o henificada en las mezclas aumentó la producción de amonio. También se encontró un efecto del tipo de procesamiento al que fue sometido el forraje sobre la concentración de amonio, los ensilajes produciendo mayor nivel que los henos (9.1 vs. 5.3 mmol/g).

La *Calliandra* pura o en alta proporción en las mezclas resultó en bajas producciones de amonio. Esto sugiere una alternativa para lograr el sobre paso de proteína dietética al tracto digestivo posterior y tiene su explicación en la capacidad de esta leguminosa a formar complejos con proteínas y otros componentes de la dieta (Reed, 1995; Mcsweeny *et al.*, 2001; Monsalve, 2003; Valencia, 2003). El efecto contrario se observó con la inclusión de *Vigna* 100% que aumentó la concentración de amonio y favoreció la degradación aparente de MO, PC, y FDN y FDA. De otro lado, la inclusión de mezclas de estas dos

Cuadro 2. Degradación aparente porcentual de nutrientes de las dietas experimentales

Tratamientos	Degradación aparente de nutrientes (%)			
	MO	PC	FDN	FDA
T1 Ensilaje <i>Calliandra</i> 100%	29.8 <sup>e</sup>	16.9 <sup>c</sup>	14.2 <sup>a</sup>	4.0 <sup>abc</sup>
T2 Ensilaje <i>Vigna</i> 100%	56.8 <sup>a</sup>	49.8 <sup>a</sup>	19.2 <sup>a</sup>	23.8 <sup>abc</sup>
T3 Ensilaje <i>Calliandra/Vigna</i> 67/33%	42.8 <sup>cd</sup>	17.7 <sup>c</sup>	-0.09 <sup>bc</sup>	1.38 <sup>abc</sup>
T4 Ensilaje <i>Vigna/Calliandra</i> 67/33%	54.5 <sup>a</sup>	44.2 <sup>ab</sup>	15.9 <sup>a</sup>	31.3 <sup>a</sup>
T5 Heno <i>Calliandra</i> 100%	29.2 <sup>e</sup>	13.6 <sup>c</sup>	-18.9 <sup>c</sup>	-17.8 <sup>c</sup>
T6 Heno <i>Vigna</i> 100%	51.9 <sup>ab</sup>	27.4 <sup>bc</sup>	7.1 <sup>a</sup>	40.1 <sup>a</sup>
T7 Heno <i>Calliandra/Vigna</i> 67/33%	37.9 <sup>d</sup>	16.5 <sup>c</sup>	-8.5 <sup>bc</sup>	2.1 <sup>abc</sup>
T8 Heno <i>Vigna/Calliandra</i> 67/33%	45.9 <sup>bc</sup>	23.6 <sup>c</sup>	11.0 <sup>a</sup>	28.1 <sup>a</sup>

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ )

Cuadro 3. Concentración de amonio en el líquido del sistema Rusitec

Tratamientos	NH <sub>3</sub> (mmol/g)
T1 Ensilaje <i>Calliandra calothyrsus</i> 100%	4.4 <sup>c</sup>
T2 Ensilaje <i>Vigna unguiculata</i> 100%	15.9 <sup>a</sup>
T3 Ensilaje <i>Calliandra calothyrsus/Vigna unguiculata</i> 67/33%	6.7 <sup>bc</sup>
T4 Ensilaje <i>Vigna unguiculata/Calliandra calothyrsus</i> 67/33%	9.5 <sup>b</sup>
T5 Heno <i>Calliandra calothyrsus</i> 100%	2.8 <sup>c</sup>
T6 Heno <i>Vigna unguiculata</i> 100%	8.4 <sup>b</sup>
T7 Heno <i>Calliandra calothyrsus/Vigna unguiculata</i> 67/33%	3.7 <sup>c</sup>
T8 Heno <i>Vigna unguiculata/Calliandra calothyrsus</i> 67/33%	6.2 <sup>bc</sup>

Letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ )

leguminosas en proporciones de 33 y 67% se plantea como alternativas (Hess *et al.*, 2004) que permiten mejorar un tanto la calidad nutricional de la dieta sin causar aumentos significativos en la emisión de metano. El análisis de

correlación para relacionar la producción de metano y la de amonio con la degradación de MO arrojó coeficiente de determinación de 72% y 55%, respectivamente.

## Conclusión

En el sistema RUSITEC se observó igualmente el efecto de la especie botánica y el del proceso de conservación realizado. Los ensilajes mostraron las mayores degradaciones de de MO, PC, FDN y FDA y la mayor producción de metano y amonio que los henos y la *Vigna* mayores degradaciones de estas fracciones y producción de los gases que *Calliandra*.

*C. calothyrsus* con su alto contenido de taninos dio evidencia de formar complejos tanino-proteína que no se degradan y por eso reporta baja producción de metano, un gas con efecto invernadero, y de amonio, con posible efecto de promover la proteína de sobrepaso.

## Literatura Citada

- Carmona, J., M. Bolivar y L. A. Giraldo. 2005. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 18(1):49-63.
- Czerkawski, J. W. and G. Breckenridge. 1977. Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec). *Br. J. Nutr.* 38: 371-384.
- Hess, H. D., F. L. Valencia, L. M. Monsalve, C. E. Lascano and M. Kreuzer. 2004. Effects of tannins in *Calliandra calothyrsus* and supplemental molasses on ruminal fermentation *in vitro*. *J. Anim. Feed Sci.* 13(Supl. 1): 95-98.
- Degen, A., H. P. S. Makkar, K. Becker and N. Borowy. 1995. Acacia saligna as a fodder tree for desert livestock. *J. Sci. Food Agric.* 68:65-71.
- Machmuller, A., C. R. Soliva and M. Kreuzer. 2002. *In vitro* ruminal methane suppression by lauric acid as influenced by dietary calcium. *Can. J. Anim. Sci.* 82:233-239.
- Makkar, H. P. S. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Rum. Res.* 49: 241-256.
- Makkar H. P. S. and K. Becker. 1997. Adaptation of cattle to tannins: role of proline-rich proteins in oak-fed cattle. *Anim. Sci.* 67:277-281.
- Mcsweeney C. S., B. Palmer, R. Bunch and D. O. Krause. 2001. *In vitro* quality assessment of tannin-containing tropical shrub legumes: protein and fibre digestion. *Anim. Feed Sci. Technol.* 82:227.

- Monsalve, L.M. 2003. Suplementación de una gramínea tropical con leguminosas y *Sapindus saponaria* efectos sobre la fermentación ruminal y la metanogénesis *in vitro*. Trabajo de grado de Zootecnista. Universidad de Santa Rosa de Cabal. Pereira. 86 p.
- Montenegro, J. y S. Abarca. 2002. Fijación de Carbono, Emisión de Metano y de Oxido Nitroso en Sistemas de Producción Bovina en Costa Rica En: Intensificación de la Ganadería en Centroamérica. Beneficios Económicos y Ambientales. Capítulo 10. Depósito de Documentos de la FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/WAIRDOCS/LEAD/x6366s/x6366s10.htm>
- Reed, J. D. 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *J. Anim. Sci.* 73: 1516-1528.
- SAS. 2003. SAS/Stat software. Release 9.1 (SAS Institute Inc. Cary, NC).
- Valencia, F. L. 2003. Efecto de la mezcla de leguminosas tropicales en relación con la presencia de taninos y emisiones de metano en un sistema *in vitro* (Rusitec). Tesis de Magíster. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. 83 p.