

Determinación *in vitro* de la calidad nutricional de tres leguminosas forrajeras

In vitro determination of nutritional quality in three forage legumes.

Walter Fernando Vivas Arturo^{1*}, Dídimo Efraín Vera Arteaga¹, Jorge Alpizar Muni²

¹ Facultad de Ciencias Zootécnicas de la Universidad Técnica de Manabí. Chone, Manabí, Ecuador.

* Autor para correspondencia: wvivas@utm.edu.ec

Resumen

La presente investigación se condujo con el propósito de establecer el contenido nutricional, producción de gases y digestibilidad de la materia seca de tres leguminosas, alfalfa (*Medicago sativa*), centrosema (*Centrosema pubens*) y leucaena (*Leucaena leucocephala*). La determinación del contenido nutricional se evaluó utilizando métodos estandarizados, mientras que la digestibilidad de la materia seca (DMS) y la producción de gas se realizó mediante digestibilidad enzimática *in vitro*. Los contenidos nutricionales de las tres leguminosas son similares excepto para centrosema que mostró un 71,23% de fibra detergente neutra (FDN) y la DMS con apenas 26,98%. En relación a la producción de gases, existen diferencias altamente significativas ($p < 0,001$) entre las variables estudiadas, observándose que la centrosema, a partir de las 16 horas, tuvo una mayor producción. A las 96 horas se encontraron promedios de 151,34 ml 500mg⁻¹, 122,1 ml 500mg⁻¹ y 117,50 ml 500 mg⁻¹ de gas para centrosema, leucaena y alfalfa, respectivamente. Los resultados confirman la posibilidad del uso de estas leguminosas como alternativa para mejorar las deficiencias nutricionales en los sistemas de producción de rumiantes.

Palabras clave: digestibilidad, materia seca, producción de gases, *in vitro*.

Abstract

The present investigation was conducted in order to establish nutritional content, gas production and dry matter digestibility in three legumes, Alfalfa (*Medicago sativa*), Centrosema (*Centrosema pubescens*) and Leucaena (*Leucaena leucocephala*). Nutritional content was evaluated using standardized methods, while dry matter digestibility (DMS) and gas production were evaluated in terms of *in vitro* enzymatic digestibility. Nutritional contents of the three legumes are similar, except for Centrosema which showed 71.23% of Neutral Detergent Fiber (FDN) and DMS of just 26.98%. In relation to gas production, highly significant differences ($p < 0.001$) existed between the legumes studied, it being observed that the Centrosema, after 16 hours, had a greater gas production. At 96 hours, averages of 151.34 ml 500mg⁻¹, 122.1 ml 500mg⁻¹ and 117.50 ml 500mg⁻¹ of gas were registered for Centrosema, Leucaena and Alfalfa respectively. These results validate the option of using these legumes as an alternative in order to improve the nutritional deficiencies in ruminant production systems.

Key words: Digestibility, dry matter, gas production, *in vitro*.



Recibido: 28 de marzo, 2016
Aceptado: 30 de noviembre, 2016

Introducción

En el trópico, la suplementación de dietas basadas en pastos de gramíneas es necesaria para garantizar un suministro adecuado de nutrientes, principalmente en rumiantes con alto potencial productivo (Jayanegara & Sofyan, 2009).

La posibilidad de mejorar las deficiencias nutricionales de los forrajes, suplementándolos con nitrógeno de fuentes vegetales o no proteico, resulta bastante costosa; otra alternativa es el uso de las leguminosas, las cuales fijan nitrógeno aprovechable para las gramíneas asociadas y mantienen su calidad a través del tiempo, particularmente en la época seca cuando los animales más las seleccionan (Lascano, Heinrichs & Tricarico, 2012).

La alfalfa (*Medicago sativa*) pertenece a la familia de las leguminosas. Se trata de una planta perenne, vivaz y de porte erecto; la raíz principal es pivotante, robusta y muy desarrollada (hasta 5 m de longitud) con numerosas raíces secundarias. Posee una corona que sale del terreno, de la cual emergen brotes que dan lugar a los tallos, que soportan el peso de hojas e inflorescencias, además son muy consistentes. Es una planta muy adecuada para la siega, con hojas trifoliadas, aunque las primeras hojas verdaderas son unifoliadas. Los márgenes son lisos y con los bordes superiores ligeramente dentados, la flor característica de esta familia es la de la subfamilia Papilionoidea. Son de color azul o púrpura, con inflorescencias en racimos que nacen en las axilas de las hojas y los frutos por ser una legumbre indehiscente sin espinas que contiene entre 2 y 6 semillas amarillentas, arriñonadas y de 1,5 a 2,5 mm. de longitud.

En México, por ejemplo, la alfalfa ocupa un espacio preponderante en la alimentación animal, por ser una especie forrajera con alto potencial productivo. Su presencia aumentó en la última década en ese país a 27,2% (SIAP, 2012). Constituye un recurso forrajero de significativa importancia además de que alcanza entre 18,4% a 20% de proteína (Bhatti, Bhatti &

Asgher, 2013; Jahn, Wu & Chen, 2000). Su uso es amplio en ganado lechero como forraje de excelente calidad, utilizándose en monocultivos o en asociación, en pastoreo o bien como forraje de corte fresco o henificado. Su potencial en condiciones tropicales se evidencia además a partir de los resultados de otros estudios relacionados con la producción y composición de la leche (Álvarez *et al.*, 2006)

La Leucaena (*Leucaena leucocephala*) es una leguminosa arbustiva que puede alcanzar alturas comprendidas entre los 2,0 y los 20,0 metros. Esta es una especie tropical que necesita temperaturas entre 25 a 30 °C para un crecimiento óptimo. Posee un sistema radical profundo que puede extenderse hasta 5 m para obtener agua subterránea, lo cual le da ventajas en zonas con déficit hídrico. Se puede desarrollar en zonas con lluvias entre los 300 y 3 000 mm/año. Es muy poco tolerante a suelos con mal drenaje, no es exigente en la fertilidad natural de los suelos, pero con buen drenaje y sin problemas de incidencia aluminio (Espinoza, Tejos, Chacón, Arriojas, & Argenti, 1996).

Bacab, Madera, Solorio, Vera y Marrufo (2013) afirman que en la última década se han promovido sistemas silvopastoriles intensivos caracterizados por la presencia de altas densidades de arbustos forrajeros, como la leguminosa *Leucaena leucocephala*, asociada con pastos mejorados. En conjunto demostraron ser una opción para mejorar la alimentación del ganado debido a su alto rendimiento y calidad de forraje. Su uso, según los autores permitió incrementar la producción de carne y leche. Por otro lado, López, Lamela, Montejo & Sánchez (2015) reportaron que utilizando un sistema de pastoreo en asociación de guinea (*Megathyrus maximus*) y leucaena (*Leucaena leucocephala*) con dos tratamientos: SS (sin suplementación) y CS (0,5 kg de concentrado por kilogramo de leche producido a partir del octavo), la suplementación con concentrado en vacas lecheras Holstein x Cebú, con elevada oferta de forraje, no incrementó la producción de leche ni mejoró su calidad nutricional.

La otra especie utilizada en el estudio fue la *Centrosema pubescens*. Esta es una leguminosa herbácea perenne, postrada a enredadera, de 40 – 50 cm de altura, raíces pivotantes y vigorosas. Tallos delgados, rastreros estoloníferos, un poco pubescentes, no llegan a ser leñosos por lo menos antes de 18 meses; hojas trifoliadas, de color oscuro, elíptica u ovado-elíptica, aproximadamente de 4 cm de largo y 3,5 cm de ancho, un poco pubescente, especialmente en la superficie más baja. Flores grandes y vistosas de color lila. Vaina lineal con márgenes prominentes de 7,5 a 15 cm, castaño oscuro cuando está madura. Contiene alrededor de 20 semillas, de forma oblonga con esquinas redondeadas, de 5 por 4 mm, de color castaño-negro. Crece hasta 1 700 msnm, precipitaciones entre 1 000 y 1 750 mm/año. Se adapta a suelos con baja a mediana fertilidad, bajos niveles de P y pH de 4,5 – 7,0. Se adapta a un rango amplio de textura del suelo, desde arenoso-franco a arcillo-limoso.

Entre las especies más conocidas se encuentran *C. plumieri*, *C. virginianum* y *C. pubescens*. Esta última es la más utilizada como cultivo forrajero en el trópico, debido a su gran capacidad de adaptación, altos rendimientos en asociación con gramíneas (11,0-25,0 t de MS/ha), alto valor nutritivo (27% de PC y 51-69% de digestibilidad) y amplio rango de compatibilidad con gramíneas. La carga óptima en asociación con gramíneas naturales es de aproximadamente 2,8 animales/ha, con lo cual se obtienen ganancias de 350-500 g/animal/día, mientras que con gramíneas mejoradas esta se puede aumentar hasta 5,5 animales/ha con ganancias de 357-1 000 kg/ha/añ (Fantz, 1996).

La presente investigación se realizó con el objetivo de determinar la calidad nutricional, producción de gases y digestibilidad de la materia seca de alfalfa, centrosema y leucaena, las cuales pueden aportar proteína de bajo costo a la dieta de los rumiantes, con incidencia en la producción e ingresos para los productores pecuarios.

Materiales y métodos

En el laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, ubicado en la Granja Mario Gonzales Arana, 03° 30' 45.6" N y 76° 18' 29.911" O, 1 050 msnm, 23,5 °C y 77% de HR se realizó la presente investigación, con el propósito de evaluar los componentes nutricionales, digestibilidad de la materia seca y producción de gases de alfalfa, leucaena y centrosema.

Las muestras de alfalfa se tomaron de materia prima deshidratada, importada (cubos) desde Chile, tomada al siguiente día del desembarque, lo cual indica que el tiempo de deshidratación, peletizado, transporte desde el país de origen, no fue superior a los 15 días. La leucaena y centrosema se colectaron en los predios de la granja Mario Gonzales Arana, en la mañana, luego de volatizarse el rocío. En el caso de la leucaena se recolectó en el último tercio de la planta, y para la centrosema toda la planta en estado avanzado de su desarrollo.

Una vez recolectados los materiales vegetativos (aproximadamente 2 kg) cada uno se homogeneizó y extrajeron muestras de 1 kg, las cuales fueron deshidratadas en estufa de desecación a 60 °C y molidas en cribas de 1 mm; posteriormente se empacaron y almacenaron en submuestras de 0,5 Kg.

A partir de estas muestras se hicieron análisis químicos por triplicado, siguiendo procedimientos estandarizados (AOAC, 2005) para materia seca (MS), cenizas (CEN), proteína bruta (PB) y extracto etéreo (EE); además, se determinaron las fracciones de fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA) y lignina detergente ácida (LDA). La energía bruta (EB) se determinó en bomba calorimétrica adiabática.

La medición de la producción de gas, como una aproximación a la fermentación ruminal, no es nueva, McBee (1971) describió un método manométrico para medirla tras generarse por una mezcla de bacterias ruminales que posteriormente sufrió diferentes modificaciones.

En este trabajo se utilizó el método de evaluación de la producción de gases mediante jeringas, semejante al reportado por Menke y Steingass (1988) quienes describieron en Alemania un sistema *in vitro* en el cual la producción de gases de un sustrato es usada para la predicción de la digestibilidad y el contenido de energía metabolizable. El método utiliza una jeringa en la cual se incubaba el sustrato en un medio bufferado e inóculo de fluido ruminal. La producción de gases se mide a diferentes intervalos de tiempos por la posición del pistón en la jeringa. En diferentes países se ha trabajado con este método para simplificar y computarizar la medición de gas (Schofield, Pitt, & Pell, 1994; Theodorou, *et al.*, 1994).

La determinación de digestibilidad de la Materia Seca se realizó simulando la fermentación ruminal *in vitro* (DIVMS) utilizando digestores, para lo cual se mezclaron las muestras en estudio con solución tampón fosfato, ácido clorhídrico, enzima pepsina y solución de cloranfenicol y se llevaron a baño maría a 39 °C durante 2 horas, con agitación, según Kambashi *et al.*, (2016).

Previamente se recolectó líquido ruminal en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) (Palмира-Colombia), en dos toros fistulados de 10 años de edad con un peso promedio de 850 kg/PV, los cuales consumen pasto estrella dispuestos a pastoreo rotacional con sales minerales y abundante agua. El líquido ruminal fue filtrado una vez extraído y para evitar cambios bruscos de temperatura se selló en un termo a temperatura corporal, siendo transportado inmediatamente hasta el laboratorio,

donde se le suministró CO₂ para evitar que los microorganismos ruminales perezcan.

Siguiendo el protocolo, se colocaron las jeringas en la cámara de fermentación (digestores), sometiéndolas a agitación en baño maría a 39 °C. La producción de gases se midió a partir de lecturas secuenciales a las 2, 5, 8, 12, 16, 20, 24, 48, 72 y hasta las 96 horas.

El valor de la digestibilidad, fue calculado a partir de la técnica *in vitro* de producción de gases, ya que esta permite predecir la tasa de digestión de las diferentes fracciones de carbohidratos; también permite determinar y cuantificar las diferencias nutricionales atribuidas al estado de madurez de las plantas durante las primeras horas del estudio, de acuerdo a lo planteado por Menke y Steingass (1988) así como por Pell, Doane y Schofield (1977).

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el paquete estadístico SPSS, en un diseño completamente al azar. En el caso de la producción de gases se determinó, además del efecto de las tres especies, el tiempo transcurrido desde el inicio del experimento y la interacción entre ambos factores.

Resultados

En la tabla 1 se aprecia que las diferentes leguminosas estudiadas presentan efectos semejantes (no significativos) en la mayoría de los nutrientes objeto de análisis, con excepción de la Proteína Bruta (PB %) y la Fibra Detergente Neutra (FDN %).

Tabla 1. Comparación de la calidad nutricional de Alfalfa, Leucaena y Centrosema.

Nutrientes	Alfalfa	Leucaena	Centrosema	E S ±
EE %	2,36	1,85	2,17	0,292
PB %	16,43 ^b	20,37 ^a	17,95 ^b	0,847
CENIZAS %	7,54	6,57	7,98	1,256
FDN %	49,93 ^b	47,74 ^b	71,23 ^a	2,783
FDA %	34,29	31,34	33,40	1,843
LIGNINA %	8,57	16,08	9,00	5,728
HEMICELULOSA %	16,65	16,40	37,83	6,225
CELULOSA %	2,71	15,27	24,40	3,822
EBRUTA (Kcal/Kg/MS)	4 402,00	4 618,00	4 537,00	162,4

^{a, b.} Medias con diferentes superíndices por fila, difieren significativamente ($P < 0,05$)

En el caso de la PB, resulta interesante destacar que la leucaena muestra valores superiores en comparación con la alfalfa y la centrosema, con 20,37, 16,43 y 17,95%, respectivamente, mientras que los contenidos de cenizas fueron similares, con 6,57, 7,54 y 7,98%, para la leucaena, alfalfa y centrosema. Por su parte, el valor relativamente alto de la FDN alcanzado por la centrosema (71,23%), en comparación con las otras dos leguminosas, se debió al avanzado estado fisiológico, mientras que la energía bruta se obtuvo entre 4 402 para la alfalfa y 4 618 Kcal para la leucaena.

La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos en la digestibilidad de la materia seca y la producción de gases totales. En relación a los resultados de la Digestibilidad de la Materia Seca (DMS %), se encontraron valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre las tres leguminosas, resultando superior en el caso de la alfalfa.

El estudio de la evolución en la producción de gases durante todo el período de fermentación, se muestra en la figura 1. Los valores representados con sus respectivas barras de error al 95%, muestran como la alfalfa alcanzó valores superiores a las restantes leguminosas estudiadas durante las primeras horas, mismos que descendieron comparativamente hasta el final del período.

La leucaena, por su parte, mantuvo valores relativamente más bajos durante las primeras horas del estudio, hasta alcanzar una posición intermedia entre las otras dos leguminosas estudiadas.

Finalmente, la centrosema mostró una producción de gases en ascenso superior a la leucaena en todas las etapas e inferior a la alfalfa durante las primeras 12 horas; luego, a partir de la lectura a las 20 horas resultó superior a las restantes leguminosas en estudio.

Tabla 2. Digestibilidad de la Materia Seca y Producción total de gases.

Leguminosas	DMS%	Total gases a las 96 Horas (ml 500 mg ⁻¹)
Alfalfa	54.50 ^a	117.17 ^b
Leucaena	41.20 ^b	121.02 ^a
Centrosema	26.98 ^c	126.67 ^a

^{a, b, c} Medias con diferentes superíndices por filas difieren significativamente ($p < 0,05$).

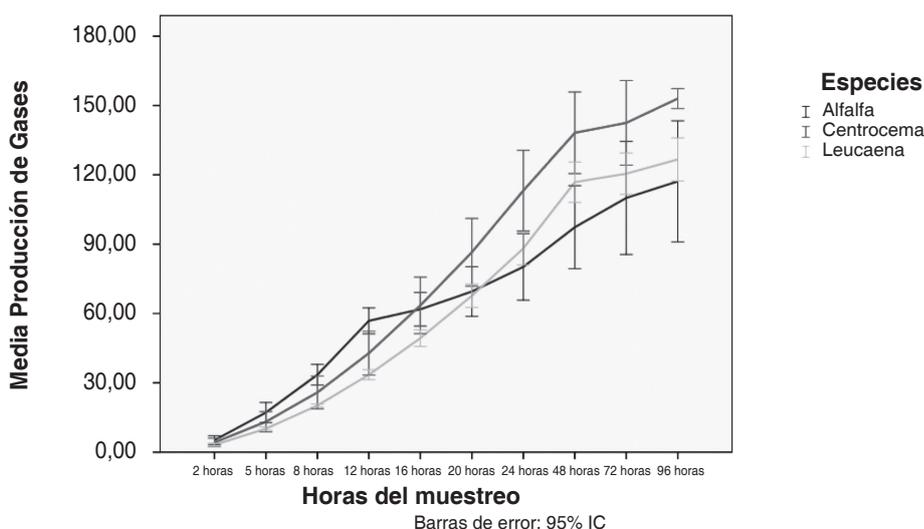


Figura 1. Evolución de la producción de gases para las tres leguminosas estudiadas durante todo el período de la fermentación.

Discusión

En relación a los resultados obtenidos en esta investigación relativos a la calidad nutricional de leucaena, Razz, Clavero y Vergara López (2004) obtuvieron resultados superiores para PB, EE y cenizas; similares en EB, e inferiores en FDN y FDA. Al respecto debe tenerse en cuenta que la muestra se tomó en ese trabajo a partir de un material tierno y por tanto de mejor calidad nutricional. Estos resultados podrían estar asociados a las condiciones en las que se realizó la toma de muestras (hojas tercio medio y alto de la planta).

Por su parte, Villaquirán y Lascano (1986), en su estudio de caracterización nutricional de centrosema, reportaron porcentajes de PB en hojas (17,9%) y tallos (12,4%), siendo los del presente estudio intermedios (15,9%). El contenido de FDA de la planta entera fue de $50,9 \pm 35\%$, el porcentaje promedio de la FDA en la flor fue de $37,0 \pm 12,9\%$. Estos valores fueron similares a los de las hojas, en tanto que el porcentaje de hemicelulosa, calculado a partir de diferencia entre FDN y FDA, fue mayor en la flor que en las hojas y tallos, tomando en consideración el avanzado estado de desarrollo de las plantas que conformaron la muestra.

Los valores observados en Leucaena para los distintos parámetros son superiores a los reportados por Keir, Van Lai, Preston y Orskov (1997), así como por Apráez, Delgado y Narváez (2012), quienes señalaron además que la presencia de taninos en variedades de esta especie, unida a otros factores, puede influir en la baja degradación de la materia seca. Por su parte, reportes de López *et al.* (2012) fueron de 23% de MS; 27,2% de PB; 31,18% de FND; 19,06% de FDA y 8,43% de ceniza, resultados muy similares a los encontrados en este trabajo.

En relación con la Digestibilidad de la Materia Seca, los resultados de Avendaño, Fernández, Ovalle y Blu (2004) reportan, con base en estudio sobre heno de alfalfa, una DMS de 59,9% cercana a los de esta evaluación. En tanto, Steacy y McCloskey (1999) dan cifras de 70,7%

y 58,0% de DMS, para henos de alfalfa con 10 % de flor y plena floración, respectivamente. Por otra parte, Soto y López (1986) indicaron valores de 79,4% y 66,3% de DMS para cortes de primavera y otoño, respectivamente. También Jahn *et al.* (2000) obtuvieron 59,9% de DMS, similar a la de esta investigación, con alfalfa en un 50% de floración. Se puede relacionar este menor valor de DMS, además, por tratarse de heno de alfalfa en pellet utilizado en el presente trabajo, ya que el paso por el rumen sería más rápido que con henos en ramas o enteros, produciéndose menos fermentación, lo que puede reducir la DMS alrededor de un 10% (Vega, Ramírez, Leonard & Igarza, 2006).

En el caso de la Leucaena, los valores de digestibilidad fueron de 41,20%, lo cual podría estar asociado con los niveles altos de fibra, como consecuencia de la baja proporción de hojas y de su madurez.

Valderrama y Anrique (2011) reportaron un 87,3% de digestibilidad *in vitro* para la materia orgánica, por consiguiente con mayor aprovechamiento en comparación con los resultados de este trabajo. Estos datos están muy por debajo de los conseguidos por Avendaño *et al.* (2004) y Steacy y McCloskey (1999) para proteína bruta. En cuanto a la fermentación se produjo 114 ml 500mg^{-1} de gas para la alfalfa durante las 96 horas de medición, similares a los logrados por Rodríguez, Iparraguirre y Reinaldo (2004).

La evaluación de la digestibilidad de la materia seca mediante la producción de gases y los valores que se presentan a partir del modelo utilizado Menke y Steingass (1988), da que en las primeras 24 horas la leguminosa de mayor fermentación fue la alfalfa, siendo esta la más digestible, pese a que en el rumen tránsito superior, a un día, se limita la fermentación de la fibra; por otra parte, la leucaena produjo menor cantidad de gases durante las primeras horas. Esto se debería al contenido de metabolitos secundarios en concordancia con lo manifestado por Lascano *et al.* (2012), mientras que para la centrocema un factor de la baja producción de gas en las primeras horas se debió al estado de madurez.

Con base a esto, Menke y Steingass (1979) encontraron que la producción de gas acumulada en 24 horas estuvo bien correlacionada con la digestibilidad de la MO, determinada *in vivo*. Finalmente, Sileshi, Owen, Dhanoa, & Theodorou (1996) han reportado significativas correlaciones entre la tasa fraccional de desaparición de la MS *in situ* y la tasa fraccional de producción de gas.

La estimación de los parámetros de degradación ruminal de la MS se calcularon mediante la siguiente expresión:

$$\% \text{ degradabilidad} = \frac{\text{cantidad inicial (g)} - \text{cantidad residual (g)}}{\text{cantidad inicial (g)}} * 100$$

La degradabilidad de la materia seca se ajustó por el modelo descrito por Storm y Arskov (1984)

$$Y = a + b (1 - e^{-ct})$$

Donde:

Y = Porcentaje de degradación acumulada en el tiempo %.

a = Intercepto de la curva de degradación cuando t = 0 (degradabilidad inicial, %).

b = Fracción degradada por acción de los microorganismos (degradación máxima, %).

c = Tasa de degradación, % h⁻¹.

t = Tiempo de incubación en el rumen, horas.

e = Base de los logaritmos naturales.

Razz Clavero y Vergara López (2004), encontraron porcentajes superiores de DMS para la leucaena, cuya degradación fue de 49,53%, lo que promueve una mayor digestión ruminal. Esto implica que esta especie puede ser una fuente tanto proteica y energética, ya que la retención de MS en el rumen es menor porque la tasa de pasaje es mayor y por lo tanto se incrementa el consumo de materia seca. Estos resultados son superiores a los alcanzados en este trabajo seguramente debido a las características de las muestras utilizadas en sus estudios.

Los valores observados en *Leucaena* para los distintos parámetros son superiores a los reportados por Keir *et al.* (1997) y Apráez *et al.* (2012), quienes señalaron que la presencia de taninos en variedades de esta especie y otros factores de la planta pueden influir en la baja degradación de la materia seca. Evaluaron la accesión CIAT 7984, cuyo contenido de mimosina es de 3,59%, valor considerado bajo dentro del rango normal para la especie.

La producción de gas de la alfalfa tuvo un comportamiento vertiginoso hasta las 20 horas con el 69% del total de producción de gas. Dentro de este periodo, la mayor producción de gas se dio entre las 12 y 16 horas con 23,33 ml 500 mg⁻¹. A partir de las 20 hasta las 48 horas, la *Leucaena* produjo el 48% del total de gas, lo que implica mayor tiempo para la fermentación. Esto conlleva una tasa de pasaje más lenta.

La DIVMO y las concentraciones de PB y macro elementos de cinco variedades de *Centrosema pubescens* reportadas por Pirela, Morillo y Faría (2003), alcanzaron un promedio de 53,6%, en DIVMO, para la proteína 24,1%. En general, los valores de digestibilidad para todas las accesiones pueden considerarse bajos, lo cual puede ser atribuible al alto número de estolones y al mayor crecimiento lateral de sus ramificaciones ya que estas fracciones contienen un porcentaje de fibra más elevado que las hojas. Estos datos están por encima de los reportados tanto en digestibilidad como en PB, a los obtenidos en el presente estudio.

En cuanto a la variable producción de gas hay diferencias estadísticas entre los tratamientos, semejantes a los reportados por Resendiz *et al.* (2013), quienes encontraron diferencias estadísticas (p < 0,05) entre tratamientos en todos los tiempos de incubación, a excepción de las 0 horas (p > 0,05).

Resultados similares a los de esta investigación fueron reportados por Pedraza *et al.* (2003), quienes obtuvieron valores en la producción de gas alrededor del 50% entre las 24 y 48 horas

al evaluar nitrógeno digestible. En ese trabajo los autores utilizaron factores anti nutricionales. Maheri-Sis *et al.* (2010) también presentan valores inferiores en *Desmodium intortum*, similares en *Desmodium uncinatum*, y muy superiores en *Neonotonia wightii*, *Pueraria phaseoloides* y *Leucaena leucocephala*, en 24 horas; además, mencionan que existen aporte de nitrógeno de leucaena en el rumen. La variabilidad de la digestibilidad de la Leucaena está relacionada, según Pedraza *et al.* (2003) a la característica genética del material en estudio.

Conclusiones

En este estudio, el contenido nutricional de alfalfa (*Medicago sativa*), centrosema (*Centrosema pubens*) y leucaena (*Leucaena leucocephala*) fue similar en la mayoría de las variables analizadas con excepción de la PB y la FND, los que estuvieron influenciados por el estado fenológico del material al momento de la toma de muestras.

La Digestibilidad de la Materia Seca fue de 54,50%, 41,20% y 26,98% para la alfalfa, leucaena y centrosema, respectivamente, siendo la alfalfa la de mayor aprovechamiento.

La degradación potencial de la materia seca fue influenciada también por el estado fisiológico de las diferentes especies al momento de la toma de muestras.

Referencias bibliograficas

- Álvarez, J. D., Hansen, A., Ord, T., Bebas, P., Chappell, P. E., Giebultowicz, J. M., & Sehgal, A. (2006). The circadian clock protein BMAL1 is necessary for fertility and proper testosterone production in mice. *Journal of biological rhythms*, 23(1), 26-36.
- AOAC International. (2005). *Official methods of analysis of AOAC International*. AOAC International.
- Apráez, J. E., Delgado, J. M., & Narváez, J. P. (2012). Composición nutricional, degradación in vitro y potencial de producción de gas, de herbáceas, arbóreas y arbustivas encontradas en el trópico alto de Nariño. *Livestock Research for Rural Development*, 24 (3)
- Avendaño, R., Fernández, E., Ovalle, M., & Blu, L. (2004). Ovinos Alimentados con Raciones que Incluyen Tagasaste (*Chamaecytisus proliferus* subsp. *palmensis*) en Reemplazo de Heno de Alfalfa.: II. Digestibilidad y Consumo de Nutrientes. *Agricultura Técnica*, 64(3), 271-279.
- Bacab, H.M., Madera, N.B., Solorio, F.J., Vera, F., & Marrufo, D.F. (2013). Los sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena leucocephala*: una opción para la ganadería tropical. *ANCES en Investigación*, (3): 67-81
- Bhatti, H.N., Bhatti, I.A., & Asgher, M. (2013). Kinetic and thermal characterization of peroxidase from peels of citrus *reticulata* var. *kinnow*. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 23(2), 430-435.
- Espinoza, F., Tejos, R., Chacón, E., Arriojas, L., & Argenti, P. (1996). Producción, valor nutritivo y consumo por ovinos de *Leucaena leucocephala*. I. Arquitectura. *Zootecnia Tropical*, 14(2), 215-239.
- Fantz, P.R. (1996) Taxonomic Notes on the *Centrosema Pubescens* Bentham Complex in Central America (Leguminosae: Phaseoleae: Clitoriinae). *SIDA, Contributions to Botany*, 17(2), 321-332. Recuperado de <http://www.jstor.org/stable/41967213>
- Jahn, B.M., Wu, F., & Chen, B. (2000). Massive granitoid generation in Central Asia: Nd isotope evidence and implication for continental growth in the Phanerozoic. *Episodes*, 23(2), 82-92.
- Jayanegara, A., & Sofyan, A. (2009). Supplementary feeding on the nutrient balance of lactating dairy cow at contrasting temperature regimes: assessment using Cornell net carbohydrate and protein system (CNCPS) model. *Journal of Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 34(3), 196-204. doi:10.14710/jitaa.34.3.196-204
- Kambashi, B., Kalala, G., Dochain, D., Mafwila, J., Rollin, X., Boudry, C., & Bindelle, J. (2016) Nutritive value of three tropical forage legumes and their influence on growth

- performance, carcass traits and organ weights of pigs. *Trop Anim Health Prod* 48: 1165. Doi: 10.1007/s11250-016-1070-1
- Keir, B., Van Lai, N, Preston T.R., & Orskov, E.R. (1997) Nutritive value of leaves from tropical trees and shrubs: 1. *In vitro* gas production and *in sacco* rumen degradability. *Livestock Research for Rural Development*, 9(4). Recuperado de <http://www.fao.org/ag/Aga/AGAP/FRG/lrrd9/4/bren941.htm>
- Lascano, G.J., Heinrichs, A.J., & Tricarico, J.M. (2012) Substitution of starch by soluble fiber and *Saccharomyces cerevisiae* dose response on nutrient digestion and blood metabolites for precision-fed dairy heifers. *Journal of dairy science*, 95(6), 3298-3309.
- López Valoy, B., Sotto Agüero, V., Ramírez de la Ribera, J., Sosa, W., Valdivié Navarro, M., Lourdes, S., & Cisneros López, M. (2012). Indicadores del valor nutritivo del Hidroforraje de *Leucaena leucocephala* para la alimentación de conejos. *REDVET*. Revista electrónica de Veterinaria, 13(2).
- López, O., Lamela, L., Montejo, I.L., & Sánchez, T. (2015) Influencia de la suplementación con concentrado en la producción de leche de vacas Holstein x Cebú en silvopastoreo. *Pastos y Forrajes*, 38(1), 46-54, 2015
- Maheri-Sis, N., Chamani, M., Ali-Asghar, S., Mirza-Aghazadeh, A., & Aghajanzadeh-Golshani, A. (2010). Nutritional evaluation of kabuli and desi type chickpeas (*Cicer arietinum* L.) for ruminants using *in vitro* gas production technique. *African Journal of Biotechnology*, 7(16).
- McBee, R.H. (1971). Significance of intestinal microflora in herbivory. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 2: 165-176.
- Menke, K.H. & Steingass, H. (1988). Estimations of energetic feed value obtain from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28: 1
- Pedraza R.M., La O.O., Estévez, J., Guevara, G. & Martínez, S. (2003). Degradabilidad ruminal efectiva y digestibilidad intestinal *in vitro* del nitrógeno del follaje de leguminosas arbóreas tropicales. *Rev. Pastos y Forrajes*, 26(3)
- Pell, A.N., Doane, P.H., & Schofield, P. (1997). *In vitro* digestibility and gas production. En: Simposio sobre Tópicos Especiales em Zootecnia. Lavras, mg. p. 109-32
- Pirela León, M., Morillo, D., & Faría Mármol, J. (2003). Evaluación de cinco accesiones de *Centrosema pubescens* para la alimentación de bovinos en un bosque húmedo tropical. *Rev. cient.*(Maracaibo), 13(1), 28-32.
- Razz, R., Clavero, T., & Vergara López, J. (2004). Cinética de degradación *in situ* de la *Leucaena leucocephala* y *Panicum maximum*. *Revista Científica*, 14(5) Recuperado de <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/28233>
- Resendiz, C.V., Hernández, O., Guerrero, I., Gallegos, J., Martínez, P.A., & Sánchez, C. (2013). Engorda de corderos Pelibuey con diferente nivel de Alfalfa en la dieta. *Archivos de zootecnia*, 62(239), 457-467.
- Rodríguez, R., Iparraguirre, G., & Reinaldo Rodríguez, G.I. (2004). *Características morfológicas, físicas y químicas de suelos del Valle de Conesa con pasturas de alfalfa* (No. 631.4782). Universidad Nacional del Sur.
- Schofield, P., Pitt, R.E., & Pell, A. N. (1994). Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas production. *Journal Of Animal Science-Menasha Then Albany Then Champaign Illinois-*, 72, 2980-2980.
- SIAP (Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera). (2012). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola 2012 en México. El cultivo de la alfalfa. Recuperado de <http://www.siap.gob.mx/>.
- Sileshi, Z., Owen, E., Dhanoa, M. S., & Theodorou, M. K. (1996). Prediction of *in situ* rumen dry matter disappearance of Ethiopian forages from an *in vitro* gas production technique using a pressure transducer, chemical analyses or *in vitro* digestibility. *Animal Feed Science and Technology*, 61(1), 73-87.
- Soto, L., & López, H. (1986). Dosis de Siembra en Variedades de Alfalfa (*Medicago Sativa*). *Agricultura Técnica*, 46(94).

- Steady, S.J., & McCloskey, J. (1999). Heterogeneity and the earthquake magnitude-frequency distribution. *Geophysical Research Letters*, 26(7), 899-902.
- Storm, E. & Arskov ER (1984). The nutritive value of rumen micro-organisms in ruminants. 4. The limiting amino acids of microbial protein in growing sheep determined by a new approach. *The British Journal of Nutrition*, 52, 613-620.
- 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. *Animal feed science and technology*, 48(3), 185-197.
- Valderrama, X.L., & Anrique, R.G. (2011). In situ rumen degradation kinetics of high-protein forage crops in temperate climates. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71(4), 572.
- Vega, M., Ramírez de la Ribera, J., Leonard Acosta, I., & Igarza, A. (2006). Rendimiento, caracterización química y digestibilidad del pasto *Brachiaria decumbens* en las actuales condiciones edafoclimáticas del Valle del Cauto. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, 7(5). Recuperado de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050506.htm>
- Villaquirán, M. & Lascano, C. (1986) Caracterización nutritiva de cuatro leguminosas forrajeras tropicales. *Pasturas Tropicales. Boletín CIAT*. 8(2) Recuperado de http://ciatlibrary.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/Vol8_rev2_a%C3%B1o86_art2.pdf