

Composición química y degradaciones *in vitro* de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México

Chemical composition and *in vitro* degradations of pods and leaves of legumes trees of Mexican dry tropic

Jahdai Hernández-Morales^a,

Paulino Sánchez-Santillán^{b*},

Nicolás Torres-Salado^b,

Jerónimo Herrera-Pérez^b,

Adelaido R. Rojas-García^b,

Iván Reyes-Vázquez^c,

Mario A. Mendoza-Núñez^b

^a Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Guerrero, México.

^b Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2, Universidad Autónoma de Guerrero, Cuajinicuilapa, Guerrero, México.

^c Throw Nutrition, Mexico.

*Autor de correspondencia: sanchezsantillanp@gmail.com

● **Resumen:**

Las vainas y las hojas de leguminosas arbóreas se usan como suplemento alimenticio para disminuir las deficiencias de nitrógeno que presentan los pastos en el trópico seco. El objetivo fue caracterizar la composición química y las degradaciones *in vitro* de las vainas

de *Leucaena leucocephala*, *Enterolobium cyclocarpum*, *Samanea saman*, *Acacia cochliacantha*, *Guazuma ulmifolia* y las hojas de *L. leucocephala* y *G. ulmifolia*. Se determinó el contenido de materia seca, proteína cruda (PC), cenizas, fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), ácidos grasos volátiles, concentración de bacterias totales, degradación de materia seca (DEGMS) y degradación de fibra detergente neutro (DEGFDN). El análisis estadístico fue un diseño completamente al azar. La vaina de *E. cyclocarpum* (19.50 %), la vaina (19.83 %) y la hoja (21.57 %) de *L. leucocephala* tuvieron los mayores contenidos de PC. La vaina de *E. cyclocarpum* presentó 28.38 % de FDN. La hoja de *L. leucocephala* (24.22 %) y las vainas de *S. saman* (25.06 %) y *E. cyclocarpum* (20.40 %) presentaron los menores contenidos de FDA ($P<0.05$). Las vainas de *E. cyclocarpum* (73.06 y 38.68 %) y *S. saman* (66.01 y 35.86 %) cuantificaron las mayores ($P<0.05$) DEGMS y DEGFDN. Por tanto, las vainas de *E. cyclocarpum* y *S. saman* son una alternativa viable para la alimentación de rumiantes en el trópico seco dadas sus características químicas y fermentativas.

● **Palabras clave:** Leguminosas, Bromatológico, Degradación, Suplementación, Trópico seco, Fermentativas.

● **Abstract:**

Pods and leaves of legumes trees are used as feed supplements, these are used to diminish the deficiency of nitrogen present in pastures in the dry tropic. The objective was to characterize the chemical composition and the *in vitro* degradations of pods of *Leucaena leucocephala*, *Enterolobium cyclocarpum*, *Samanea saman*, *Acacia cochliacantha*, *Guazuma ulmifolia* and leaves of *L. leucocephala* and *G. ulmifolia*. Dry matter, crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), dry matter degradation (DMDEG), neutral detergent fiber degradation (NDFDEG), volatile fatty acids, ashes and total concentration of bacteria, were determined. The experimental design was completely randomized. The pod of *E. cyclocarpum* (19.50 %), the pods (19.83 %) and leaves (21.57 %) of *L. Leucocephala* had the highest content of CP. The *E. cyclocarpum* pod presented 28.38 % of NDF. The leaf of *L. leucocephala* (24.22 %) and the pods of *S. saman* (25.06 %) and *E. cyclocarpum* (20.40 %) had the lowest contents of ADF ($P<0.05$). *E. cyclocarpum* (73.06 and 38.68 %) and *S. saman* (66.01 and 35.86 %) pods quantified the highest DMDEG and NDFDEG ($P<0.05$). Therefore, the pods of *E. cyclocarpum* and *S. saman* are a viable alternative for feeding ruminants in the dry tropic given their chemical and fermentative characteristics.

● **Key words:** Legumes, Bromatological, Degradation, Dry tropic, Fermentative, Supplementation.

Recibido 29/11/2016.

Aceptado 27/08/2017.

❖ Introducción ❖

En la época de estiaje la producción de los forrajes es escasa y de bajo valor nutricional en la región de trópico seco⁽¹⁾, ya que contiene 70 % de pared celular y 7 % de proteína cruda^(2,3). Las vainas y las hojas de leguminosas arbóreas y arbustivas representan una estrategia en la alimentación de rumiantes⁽⁴⁾, por los costos actuales que representa la suplementación con cereales y fuentes proteicas en el mercado nacional e internacional⁽⁵⁾. Las hojas y vainas de leguminosas arbóreas se usan como una fuente de forraje⁽⁶⁾. Las vainas contienen hasta 30 % de proteína cruda^(1,7,8), calcio, fósforo, magnesio, cobre⁽⁸⁾ y su proporción de fibra detergente neutro (FDN) oscila entre 18 y 62 %⁽¹⁾. Estos representan una fuente importante de nutrientes durante el periodo de seca en las regiones tropicales, al producirse la maduración de las vainas entre febrero y mayo⁽⁸⁾.

La inclusión de 30 % de vaina seca de *E. cyclocarpum* en una dieta integral para corderos propició una ganancia de peso de 125 g d⁻¹⁽⁹⁾. La complementación de toretes en pastoreo con bloques multinutricionales que incluyeron 8 % de vainas de *S. saman* presentaron una ganancia de peso de 0.747 Kg d⁻¹⁽¹⁰⁾. La inclusión de vaina de *E. cyclocarpum* en la alimentación de vacas de doble propósito manifiesta un comportamiento similar a vacas alimentadas con harina integral de soya⁽¹¹⁾. Las vainas y hojas de leguminosas arbóreas y arbustivas sirven como suplemento alimenticio para minimizar las deficiencias de nitrógeno en el trópico seco⁽¹²⁾, pero se desconocen las características químicas y fermentativas de las vainas con potencial para la alimentación de rumiantes. La técnica *in vitro* permite estimar su degradación de fibra detergente neutro (FDN) que sirve como indicador del consumo de materia seca (MS) digestible y obtener variables que permiten estimar su calidad nutritiva⁽¹³⁻¹⁶⁾.

La necesidad de usar productos regionales como las vainas y hojas de las leguminosas arbóreas y arbustivas en el trópico seco precisan conocer las características fermentativas y su composición química para establecer las ventajas y limitaciones de su uso en la alimentación de rumiantes⁽¹⁷⁾. Por tanto, el objetivo de este estudio fue caracterizar la composición química y la degradación *in vitro* de cinco tipos de vainas y hojas de dos leguminosas arbóreas del trópico seco para su uso potencial en la alimentación de rumiantes.

Material y métodos

El estudio se realizó en el laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2 de la Universidad Autónoma de Guerrero; ubicado en Cuajinicuilapa, Guerrero, México (16°08' N y 98°23' O).

De las especies leñosas *Guazuma ulmifolia*, *Leucaena leucocephala*, *Enterolobium cyclocarpum*, *Samanea saman* y *Acacia cochliacantha* se seleccionaron cuatro ramas al azar en cada árbol y se cosecharon todas las vainas fisiológicamente maduras. Las hojas de *G. ulmifolia* y *L. leucocephala* se seleccionaron de la misma forma que las vainas, por lo que se cosecharon las hojas más jóvenes de cuatro ramas por árbol; las hojas y vainas colectadas se depositaron en bolsas de papel y se trasladaron al laboratorio de Nutrición Animal para su análisis (10 árboles por especie para colectar las vainas). Las colectas de vainas y hojas se realizaron en primavera de 2015 en el municipio de Cuajinicuilapa, Guerrero. Las muestras se deshidrataron a 60 °C hasta peso constante en una estufa (RIOSSA® HCF-41, México) y se molieron con una criba de 1 mm en un molino Thomas-Wiley Mill (Thomas Scientific®, Swedesboro, NJ, USA).

● Análisis químico ●

Cada muestra se analizó por triplicado para determinar el contenido de materia seca (MS), proteína cruda (PC), cenizas (Ce) con los métodos descritos por la AOAC⁽¹⁸⁾. La fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) se determinaron con el método Van Soest *et al*⁽¹⁹⁾.

● Medio de cultivo ●

El medio de cultivo contenía dos tercios de una solución buffer-mineral reducida^(20,21) y un tercio de fluido ruminal fresco. La solución buffer-mineral reducida contenía: 150 ml de solución mineral I [6 g K₂HPO₄ (Sigma) en 1000 ml de H₂O destilada], 150 ml de solución mineral II [6 g KH₂PO₄ (Sigma) + 6 g (NH₄)₂SO₄ (Merck) + 12 g NaCl (Sigma-Aldrich) + 2.45 g MgSO₄ (Sigma) + 1.6 g CaCl₂·2H₂O (Sigma) en 1,000 ml de H₂O destilada], 100 ml de solución al 8 % de Na₂CO₃ (Merck), 100 ml de solución reductora [0.1 g L-cisteína (Sigma) + 0.1 g Na₂S·9H₂O (Meyer) + 2 ml NaOH (2N; Meyer) en 100 ml de H₂O destilada] y 2 ml de resarzurina a 0.1 % (Sigma-Aldrich). El fluido ruminal fresco se obtuvo de un bovino provisto de cánula ruminal alimentado previamente en praderas con pasto pangola (*Digitaria decumbes*) y se filtró con una manta de cielo para eliminar las macropartículas de materia orgánica. El bovino se manejó de acuerdo al reglamento interno de bioética y bienestar de la UAGro con fundamento en las normas oficiales (NOM-062-ZOO-1999 y NOM-051-ZOO-1995).

● Biodigestores ●

En un vial serológico (120 ml) se agregaron 0.5 g a peso constante de la muestra y 50 ml de medio de cultivo, bajo flujo continuo de CO₂, para mantener condiciones de anaerobiosis. Los viales se sellaron con un tapón de neopreno y un arillo de aluminio con centro removible. Los biodigestores se incubaron en baño maría a 39 °C por 72 h.

● Ácidos grasos volátiles (AGV) ●

A las 72 h de incubación de los biodigestores se usó una micropipeta (Corning®, USA) para extraer 1 ml del medio contenido en el biodigestor (tres muestras independientes por

sustrato) y depositarlo en un tubo (2 ml) para microcentrífuga (Neptune, México), en el cual se mezcló con ácido metafosfórico al 25 % (razón 4:1). Los tubos se centrifugaron a 18,800 g x por 10 min; el sobrenadante se colocó en viales para cromatografía (1.5 ml, Perkin Elmer®, USA). La concentración de AGV se determinó en un cromatógrafo de gases (Perkin Elmer®, modelo Claurus 580, USA) equipado con detector de ionización de flama y columna capilar (Elite FFAP, Agilent®) de 30 m x 0.25 mm; usando helio como gas acarreador a una presión constante de 10 psi, H₂ y aire para generar flama con flujo de 40 y 400 ml min⁻¹. Las temperaturas del horno, inyector y columna fueron 80, 240 y 250 °C y se inyectó 1 µl de muestra. Los tiempos de retención fueron 3.74, 4.39 y 5.23 min para los ácidos acético, propiónico y butírico, respectivamente.

● **Conteo de bacterias totales** ●

Una micropipeta (Corning®, USA) se usó para extraer 1 ml del medio contenido en el biodigestor con 72 h de incubación en un tubo de ensayo (PIREX, México) con 0.25 ml de formaldehído al 10 % (Sigma Aldrich). La cantidad de bacterias totales (cuatro muestras independientes por muestra) se calculó realizando el conteo directo en una cámara Petroff Houser (Hausser #39000, Electron Mycroscopy Sciences, USA), con un área de 0.0025 mm² y profundidad de 0.02 mm. Para el recuento se usó un microscopio (BX31, Olympus, USA) a una magnificación de 1,000. La cantidad de bacterias se calculó con la fórmula:

Cantidad de bacterias = (promedio) (factor de dilución, 2X10⁷)⁽²⁰⁾.

● **Degradación de materia seca y FDN** ●

La muestra residual del biodigestor se filtró usando bolsas ANKOM® previamente secadas para peso constante (cinco muestras independientes por muestra). Las bolsas con muestra se secaron a 60 °C por 24 h en una estufa (RIOSSA® HCF-41, México). La degradación *in vitro* (DEGMS) se calculó con la formula % DEGMS = (muestra inicial – muestra residual

/ muestra inicial) * 100⁽²²⁾. Las bolsas ANKOM® se sellaron a calor para determinar FDN con la metodología de ANKOM® Technology Method según Van Soest *et al*⁽¹⁹⁾. El porcentaje de degradación de la fibra detergente neutro (% DEGFND) se calculó con la fórmula % DEGFND = (FDN inicial – FDN residual / FDN inicial) * 100.

● Análisis estadístico ●

Los resultados de las variables de las muestras se analizaron en un diseño completamente al azar, usando el procedimiento GLM de SAS⁽²³⁾. Los promedios se compararon con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

❖ Resultados ❖

La hoja de *L. leucocephala* presentó el mayor contenido de PC, pero sin diferencias ($P > 0.05$) con las vainas de *E. cyclocarpum* y *L. leucocephala*; sin embargo, estas vainas tampoco variaron su contenido de PC con la vaina de *S. saman*. La hoja de *G. ulmifolia* mostró mayor contenido de PC ($P < 0.05$) respecto a su vaina; mientras, la vaina y hoja de *L. leucocephala* no presentaron diferencias (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición química de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México (%)

	FDN	FDA	Ce	PC
<i>Guazuma ulmifolia</i> (hoja)	53.20 ^{ab}	31.54 ^{bc}	11.81 ^a	15.30 ^c
<i>Leucaena leucocephala</i> (hoja)	46.83 ^b	24.22 ^{cd}	12.08 ^a	21.57 ^a
<i>Samanea saman</i> (vainas)	34.37 ^c	25.06 ^{cd}	4.29 ^c	16.08 ^{bc}
<i>Acacia cochliacantha</i> (vainas)	57.36 ^a	45.54 ^a	5.22 ^{bc}	10.91 ^d

<i>Guazuma ulmifolia</i> (vaina)	55.10 ^{ab}	44.54 ^a	6.41 ^{bc}	8.11 ^d
<i>Leucaena leucocephala</i> (vaina)	53.07 ^{ab}	38.88 ^{ab}	6.85 ^b	19.83 ^{ab}
<i>Enterolobium cyclocarpum</i> (vaina)	28.38 ^c	20.40 ^d	4.13 ^c	19.50 ^{abc}
EE	2.10	1.90	0.95	0.62

FDN= fibra detergente neutro; FDA= fibra detergente ácido; Ce= cenizas; PC= proteína cruda; EE= error estándar de la media.

^{a,b,c,d} Medias por columna con diferente literal indican diferencias ($P < 0.05$).

Las vainas de *S. saman* y *E. cyclocarpum* mostraron menor contenido de FDN ($P < 0.05$), sin diferencias entre éstas. Las hojas y vainas de *G. ulmifolia* y *L. leucocephala* no presentaron diferencias en el contenido de FDN ($P > 0.05$). La hoja de *L. leucocephala* no presentó diferencias en la porción de FDA con las vainas de *S. saman* y *E. cyclocarpum*, lo que indica que la cantidad de hemicelulosa presente en la hoja, es en promedio 13.9 % más alta que en las vainas. Las hojas evaluadas contienen en promedio 22.14 % de hemicelulosa, 11.37 % más que las vainas evaluadas. Las hojas de *G. ulmifolia* y *L. leucocephala* presentaron menor contenido de FDA que sus vainas ($P < 0.05$) estimando que su contenido de hemicelulosa es mayor en las hojas.

El contenido de cenizas de los sustratos evaluados (Cuadro 1) se clasifican en tres grupos: 1) las hojas evaluadas que presentaron las mayores concentraciones de cenizas ($P < 0.05$); 2) la vaina de *L. leucocephala*; y 3) las vainas de *S. saman* y *E. cyclocarpum* ($P < 0.05$) que presentaron diferencias con la vaina de *L. leucocephala*. Lo anterior permite establecer que las hojas de las leguminosas arbóreas tropicales evaluadas poseen menos contenido de materia orgánica que las vainas.

La degradación *in vitro* de la materia seca (DEGMS) de la vaina *E. cyclocarpum* fue mayor ($P < 0.05$) que el resto de las vainas y hojas analizadas; pero, su contenido de FDN degradado (% DEGFND) no presentó diferencias con la vaina de *S. saman* y la hoja de *G. ulmifolia*. La hoja y la vaina de *L. leucocephala* no presentaron diferencias ($P > 0.05$) en la DEGMS y DEGFND. La hoja y la vaina de *G. ulmifolia* presentaron la misma tendencia que *L. leucocephala* en la DEGMS, pero en la DEGFND las hojas presentaron mayor degradación ($P < 0.05$) por la composición de la FDN. La población de bacterias totales mostró diferencias entre los medios incubados con vaina de *S. saman*, vaina de *E. cyclocarpum* y vaina y hoja de *L. leucocephala* ($P < 0.05$; Cuadro 2).

Cuadro 2: Características fermentativas de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México

	DEGMS (%)	DEGFND (%)	[Bacterias]	AGV (mMoles)
--	--------------	---------------	-------------	-----------------

<i>Guazuma ulmifolia</i> (hoja)	47.28 ^c	37.38 ^a	0.92 X10 ^{9b}	23.15
<i>Leucaena leucocephala</i> (hoja)	48.97 ^c	26.16 ^b	1.32 X10 ^{9ab}	18.25
<i>Samanea saman</i> (vaina)	66.01 ^b	35.86 ^a	1.69 X10 ^{9a}	18.28
<i>Acacia cochliacantha</i> (vaina)	36.79 ^d	8.33 ^d	1.35 X10 ^{9ab}	19.01
<i>Guazuma ulmifolia</i> (vaina)	44.92 ^c	17.72 ^c	1.27 X10 ^{9ab}	19.95
<i>Leucaena leucocephala</i> (vaina)	46.89 ^c	24.41 ^b	0.80 X10 ^{9b}	24.02
<i>Enterolobium cyclocarpum</i> (vaina)	73.06 ^a	38.68 ^a	1.67 X10 ^{9a}	23.03
EE	2.05	1.82	0.07 X10 ⁹	1.02

DEGMS= porcentaje de degradación de materia seca; DEGFDM= porcentaje de degradación de fibra detergente neutro; [Bacterias]= concentración de bacterias totales ml⁻¹ a las 72 h de incubación; AGV= ácidos grasos volátiles totales a las 72 h de incubación; EE= error estándar de la media.

^{a,b,c,d} Medias por columna con diferente literal indican diferencias ($P<0.05$).

La concentración total de ácidos grasos volátiles y la proporción de ácido butírico (Cuadro 3) no se afectó ($P>0.05$) por el tipo de muestra fermentada. Las vainas de *E. cyclocarpum* y *S. saman* redujeron la concentración ácido acético ($P<0.05$), con diferencias entre estas vainas ($P<0.05$). Así mismo, se observa un contraste en estas vainas al presentar mayor proporción de ácido propiónico ($P<0.05$) que el resto de las muestras evaluadas.

Cuadro 3: Determinación de los ácidos acético, propiónico y butírico por cada 100 Moles de ácidos grasos volátiles producidos

	Acético	Propiónico	Butírico
<i>Guazuma ulmifolia</i> (hoja)	73.29 ^a	23.58 ^c	3.13
<i>Leucaena leucocephala</i> (hoja)	73.17 ^a	23.26 ^c	3.57
<i>Samanea saman</i> (vaina)	68.39 ^b	26.96 ^b	4.64
<i>Acacia cochliacantha</i> (vaina)	71.59 ^{ab}	24.19 ^c	4.22
<i>Guazuma ulmifolia</i> (vaina)	71.38 ^{ab}	24.47 ^c	4.15
<i>Leucaena leucocephala</i> (vaina)	71.40 ^{ab}	24.29 ^c	4.31
<i>Enterolobium cyclocarpum</i> (vaina)	62.66 ^c	31.29 ^a	6.05
EE	0.80	0.61	0.34

EE= error estándar de la media.

^{a,b,c} Medias por columna con diferente literal indican diferencias ($P<0.05$).

❖ Discusión ❖

El uso de leguminosas como suplemento es una práctica común en los sistemas de producción de rumiantes en el trópico, para mejorar el aporte de energía fermentable y la degradación de nitrógeno⁽²⁴⁻²⁷⁾, dado que los sistemas de producción dependen de la cantidad y calidad del forraje disponible⁽²⁵⁾. Las leguminosas *Leucaena leucocephala*⁽²⁸⁻³¹⁾ y *Samanea saman*^(8,32) se usan como suplemento proteico en la región del trópico seco, especialmente en la época de secas. El valor nutricional de las leguminosas varía según la parte de la planta ofrecida al rumiante^(28,33). Ngwa *et al*⁽²⁸⁾ publicaron que la vaina de *Leucaena* sp contenía 24.6 % de PC, 40.9 % de FDN, 28.5 % de FDA y 4.5 % de cenizas. Barahona *et al*⁽²⁹⁾ indicaron que las hojas de *L. leucocephala* contenían 24.5 % de FDN, 18.2 % de FDA y 3.5 % de nitrógeno; mientras, en otro trabajo⁽³⁴⁾ en hojas de *L. leucocephala* estimaron 30.2 % de PC y 5.94 % de Ce. Lo anterior contrasta con lo observado en la presente investigación; ya que los datos obtenidos son inferiores en Ce, FDN y FDA, pero superiores en PC. Soliva *et al*⁽³²⁾ publicaron datos de hojas de *S. saman* y vaina de *E. cyclocarpum*, las cuales presentaron 37.6 y 26.9 % de FDN, 27.7 y 16.9 % de PC y 7.1 y 3.2 % de Ce, resultando superior a lo expuesto en el presente estudio. Por tanto, la variabilidad bromatológica de las leguminosas evaluadas se debe a las condiciones agronómicas en las que fueron desarrolladas, ya que la fertilidad, pH del suelo⁽²⁹⁾, concentración de humedad, materia orgánica, etapa vegetativa, estructura de la planta y variabilidad genética dentro de la misma especie determinan la calidad nutritiva de la leguminosa⁽³⁵⁾.

La DEGMS de las vainas de *E. cyclocarpum* y de *S. saman* fue superior a 60 %, lo cual se atribuye a los contenidos inferiores a 40 % de FDN y 30 % de FDA, ya que, degradaciones superiores a 60 % de la materia seca de los alimentos para rumiantes se relacionan con bajas concentraciones de fibras detergentes^(36,37). Los resultados del presente estudio concuerdan con otros autores⁽³⁸⁾ quienes clasifican a las vainas de leguminosas como alimentos de buena calidad para rumiantes.

El valor nutritivo de cualquier gramínea o leguminosa depende del contenido de fibra detergente neutro y su degradación ruminal^(4,39). La variación en la DEGFND de las muestras evaluadas se debe al tipo de carbohidratos que componen a la FDN⁽⁴⁰⁾; ya que la FDN se compone de una fracción degradable y una fracción indigestible completa^(39,41). Ojeda *et al*⁽⁴²⁾ publicaron una degradación de la FDN del forraje de *S. saman* a las 48 h de

fermentación entre 24.73 y 41.75 %; datos similares a lo obtenido en la presente investigación.

Las menores DEGMS y FDN de las vainas de *L. leucocephala*, *G. ulmifolia* y *A. cochliacantha* y la población bacteriana cuantificada en los medios que contenían a la vaina de *L. leucocephala* y la hoja de *G. ulmifolia*, se atribuye a la concentración de metabolitos secundarios, porque altas concentraciones de taninos condensados en leguminosas tropicales afectan negativamente la digestibilidad de los nutrientes⁽⁴³⁾. Además, los taninos afectan los microorganismos ruminales y la síntesis microbiana, porque interactúan con los nutrientes de las muestras^(41,44,45). Las degradaciones de vaina y hoja de *L. leucocephala* son inferiores a lo publicado⁽⁴⁶⁾; ya que en forraje de *L. leucocephala* estimaron 61.6 % DEGMS a las 72 h de incubación.

La población microbiana cuantificada en los medios que contenían a las vainas de *E. cyclo carpum* y de *S. saman* como muestras, es similar a lo reportado por Sánchez-Santillán *et al*⁽²⁰⁾, quienes determinaron 7.21×10^8 bacterias ml^{-1} en medios de cultivo con celulosa cristalina, inoculados con bacterias celulolíticas; de modo que las vainas de leguminosas se pueden utilizar como suplemento para rumiantes, sin afectar la población microbiana ruminal.

La composición bromatológica de los sustratos evaluados, los microorganismos presentes durante la fermentación, las interacciones entre sustrato-microorganismo, entre otros factores⁽²¹⁾ resultaron en una actividad heterofermentativa⁽²¹⁾ durante la fermentación anaerobia de las muestras. La producción de AGV de las muestras evaluadas en la presente investigación es superior a lo indicado en otras investigaciones⁽⁴⁷⁾, pero inferior a lo reportado por Soliva *et al*⁽³²⁾ quienes mencionan 78.7 mM de AGV en vaina de *L. leucocephala* y 102.7 mM en vaina de *E. cyclo carpum*. Ramírez *et al*⁽⁴⁷⁾ cuantificaron 12.3 mM de AGV en vainas de *S. saman* y 8.6 mM de AGV en vaina de *G. ulmifolia*.

❖ Conclusiones e implicaciones ❖

La degradación de la materia seca y de la fibra detergente neutro, el contenido de proteína cruda y de las fibras detergentes de las vainas de *E. cyclo carpum* y de *S. saman* son características deseables que representan una alternativa para la alimentación de rumiantes en la región de trópico seco.

● Literatura citada

- 1 Ceconello GC, Benezra MS, Obispo NE. Composición química y degradabilidad ruminal de los frutos de algunas especies forrajeras leñosas de un bosque seco tropical. *Zoot Trop* 2003; 21(2):149-165.
- 2 Lara PE, Canché MC, Magaña H, Aguilar E, Sanginés JR. Producción de gas *in vitro* y cinética de degradación de harina de forraje de morera (*Morus alba*) mezclada con maíz. *Rev Cub Cienc Agric* 2009;43(3):273-279.
- 3 Gaviria X, Naranjo JF, Barahona R. Cinética de fermentación *in vitro* de *Leucaena leucocephala* y *Megathyrsus maximus* y sus mezclas, con o sin suplementación energética. *Pastos y Forrajes* 2015;38(1):55-63.
- 4 Delgado DC, La O O, Chongo B. Composición bromatológica y degradabilidad ruminal *in situ* de leguminosas tropicales herbáceas con perspectivas de uso en los sistemas productivos ganaderos. *Rev Cub Cienc Agric* 2007;41(4):343-346.
- 5 Delgado DC, La O O, Chongo B, Galindo J, Obregón Y, Aldama AI. Cinética de la degradación ruminal *in situ* de cuatro árboles forrajes tropicales: *Leucaena leucocephala*, *Enterolobium cyclocarpum*, *Sapindus saponaria* y *Gliricidia sepium*. *Rev Cub Cienc Agric* 2001;35(2):141-145.
- 6 Clavero T. Agroforestería en la alimentación de rumiantes en América Tropical. *R U Zulia* 2011;2(2):11-35.
- 7 Mota M, Rodríguez R, Solanas E, Fondevila M. Evaluation of four tropical browse legumes as nitrogen sources: Comparison of *in vitro* gas production with other methods to determine N degradability. *Anim Feed Sci Technol* 2005;123-124:341-350.
- 8 Delgado DC, Hera R, Cairo J, Orta Y. *Samanea saman*, a multi-purpose tree with potentialities as alternative feed for animals of productive interest. *Cub J Agric Sci* 2014;48(3):205-212.
- 9 Peralta N, Palma JM, Macedo R. Efecto de diferentes niveles de inclusión de parota (*Enterolobium cyclocarpum*) en el desarrollo de ovinos en estabulación. *Livest Res Rural Develop* 2004;16(1):1-9.
- 10 Rivero J, Rodríguez L. Comportamiento productivo de bovinos en ceba suplementados con bloques multinutricionales a base de leguminosas. Universidad Nacional de los

- Llanos Occidentales Ezequiel Zamora (UNELLEZ). Academia de Ciencias Agrícolas de Venezuela. Barinas, Venezuela. 2012.
- 11 Valenzuela VLI. Efecto del fruto de Guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum* en la producción y composición de la leche de ganado lechero de baja producción [tesis Licenciatura]. Honduras, Zamorano: Universidad Zamorano; 2010.
 - 12 Carmona AJC. Efecto de la utilización de arbóreas y arbustivas forrajeras sobre la dinámica digestiva en bovinos. *R Lasll Inv* 2007;4(1):40-50.
 - 13 Blummel M, Cone JW, Van Gelber AH, Nshalai I, Umunna NN, Makkar HPS. Prediction of forage intake using *in vitro* gas production methods: comparison of multiphase fermentation kinetics measured in an automated gas test, and combined gas volumen and substrate degradability measurements in a manual siringe system. *Anim Feed Sci Technol* 2005;123-124:517- 526.
 - 14 Posada SL, Noguera RR. Técnica *in vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Livest Res Rural Develop* 2005;17(4):36.
 - 15 Váradyova Z, Baran M, Zelanák I. Comparison of two *in vitro* fermentation gas production methods using both rumen fluid and fecal inoculums from sheep. *Anim Feed Sci Technol* 2005;123-124:81-94.
 - 16 Nasiru A, Razak AA, Ismail N, Hakimi MI. Nutritive value of cattle manure vermicast and its effect on *in vitro* ruminal gas production. *Int J Recycl Org Waste Agr* 2014;3:51-57.
 - 17 García DE, Medina MG, Humbría J, Domínguez C, Baldizán A, Cova L, *et al.* Composición proximal, niveles de metabolitos secundarios y valor nutritivo del follaje de algunos árboles forrajeros tropicales. *Arch Zootec* 2006;55(212):373-384.
 - 18 AOAC. 2005. Official Methods of Analysis (18th ed). Washington, DC. AOAC International.
 - 19 Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 1991;74(10):3583-3597.
 - 20 Sánchez-Santillán P, Cobos-Peralta MA, Hernández-Sánchez D, Álvarado Iglesias A, Espinosa-Victoria D, Herrera-Haro JG. Uso de carbón activado para conservar bacterias celulolíticas liofilizadas. *Agrociencia* 2016;50(5):575-582.

- 21 Sánchez-Santillán P, Cobos-Peralta MA. Producción *in vitro* de ácidos grasos volátiles de las bacterias celulolíticas reactivadas y bacterias ruminales totales en sustratos celulósicos. *Agrociencia* 2016;50(5):565-574.
- 22 Sánchez-Santillán P, Meneses-Mayo M, Miranda-Romero LA, Santellano-Estrada E, Alarcón-Zúñiga B. Actividad fibrolítica y producción de gas por *Pleurotus ostreatus*-IE8 y *Fomes fomentarius*-EUM1 en bagazo de caña. *MVZ Córdoba* 2015;20(supl):4907-4916.
- 23 SAS. 2011. SAS/STAT Software. Versión 9.3. Cary, NC SAS, USA: Institute INC.
- 24 Rodríguez R, Mota M, Castillo C, Fondevilla M. *In vitro* rumen fermentation of the tropical grass *Pennisetum purpureum* and mixtures with browse legumes: Effects of tannin contents. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2010;94(6):696-705.
- 25 Basha AN, Scogings PF, Nsahlai IV. Effects of season, browse species and polyethylene glycol addition on gas production kinetics of forages in the subhumid subtropical savannah. *South Africa Sci Food Agric* 2013;93(6):1338-1348.
- 26 Cardona-Iglesias JL, Mahecha-Ledesma L, Angulo-Arizala J. Arbustivas forrajeras y ácidos grasos: estrategias para disminuir la producción de metano entérico en bovinos. *Agron Mesoam* 2016;28(1):273-288.
- 27 Posada SL, Ortiz DM, Rosero RN, Vélez CA, Barrios D. Análisis económico de la suplementación con recursos arbóreos y agroindustriales en ganado cebú. *Rev CES Med Zoot* 2016;11(3):23-34.
- 28 Ngwa AT, Nsahlai IV, Bonsi MLK. The rumen digestion of dry matter, nitrogen and cell wall constituents of the pods of *Leucaena leucocephala* and some *Acacia* species. *Sci Food Agric* 2002;82(1):98-106.
- 29 Barahona R, Lascano CE, Narvaez N, Owen E, Morris P, Theodorou MK. *In vitro* degradability of mature and immature leaves of tropical forage legumes differing in condensed tannin and non-starch polysaccharide content and composition. *Sci Food Agric* 2003;83(12):1256-1266.
- 30 Hernández P, Salem AZM, López S, Sun XZ, Camacho LM, Elghandour MMY, *et al.* 2014. Influence of *Salix babylonica* and *Leucaena leucocephala* leaf extracts on ruminal fermentation characteristics, urinary purine derivative excretion and microbial protein synthesis of lambs. *Livest Sci* 2014;163:80-84.
- 31 Molina IC, Angarita EA, Mayorga OL, Chará J, Barahona-Rosales R. Effect of *Leucaena leucocephala* on methane production of Lucerna heifers fed a diet based on *Cynodon plectostachyus*. *Livest Sci* 2016;185:24-29.

- 32 Soliva CR, Zeleke AB, Clement C, Hess HD, Fievez V, Kreuze M. *In vitro* screening of various tropical foliages, seeds, fruits and medicinal plants for low methane and high ammonia generating potential in the rumen. *Anim Feed Sci Technol* 2008;147:53-71.
- 33 Kaya E, Canbolat O, Atalay AI, Kurt O, Kamalak A. Potential nutritive value and methane production of pods, seed and senescent leaves of *Gleditsia triacanthos* trees. *Livest Res Rural Develop* 2016;28(7). <http://www.lrrd.org/lrrd28/7/kama28123.html>. Accessed Feb 15, 2017.
- 34 Mboko AV, Matumuini FNE, Tendonkeng M, Lemoufouet J, Akagah AA, Boukila B, *et al.* Composition chimique d'arbustes fourragers (*Albizia lebbbeck*, *Leucaena leucocephala*, *Morinda lucida*, *Senna siamea*) en saison sèche au Gabon. *Livest Res Rural Develop* 2017;29(1). <http://www.lrrd.org/lrrd29/1/mbok29003.htm>. Accessed May 10, 2017.
- 35 Aguirre OJ. Características nutricionales de algunas leñosas forrajeras, *Abanico Veterinario* 2013;3(3):42-51.
- 36 Coley PD, Barone JA. Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 1996;27:305-335.
- 37 Apráez JE, Delgado JM, Narvaez JP. Composición nutricional, degradación *in vitro* y potencial de producción de gas, de herbáceas, arbóreas y arbustivas encontradas en el trópico alto de Nariño. *Livest Res Rural Develop* 2012;24(3):1-11.
- 38 Abreu A, Carrulla JE, Kreuzer M, Lascano CE, Diaz TE, Cano A. Efecto del fruto del pericarpio y del extracto semipurificado de saponinas de *Sapindus saponaria* sobre la fermentación ruminal y la metanogénesis *in vitro* en un Sistema RUSITEC. *Rev Col Cienc Pecu* 2003;16(2):147-154.
- 39 Nordheim-Viken H, Volden H. Effect of maturity stage, nitrogen fertilization and seasonal variation on ruminal degradation characteristics of neutral detergent fibre in timothy (*Phleum pretense L.*). *Anim Feed Sci Technol* 2009;149:30-59.
- 40 Trujillo AI, Marichal MJ, Carriquiry M. Comparison of dry matter and neutral detergent fibre degradation of fibrous feedstuffs as determined with *in situ* and *in vitro* gravimetric procedures. *Anim Feed Sci Technol* 2010;161:49-57.
- 41 Lopes F, Cook DE, Combs DK. Effects of varying dietary ratios of corn silage on digestion of neutral detergent fiber in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2015;98(9):2-13.

- 42 Ojeda A, Barroso JA, Obispo N, Gil JL, Cegarra R. Composición química, producción de gas *in vitro* y astringencia en el follaje de *Samanea saman* (Jacq.) Merrill. Pastos y Forrajes 2012;35(2):205-218.
- 43 Van Soest PJ. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. Ithaca, New York, USA: Cornell University Press; 1994.
- 44 Rodríguez R, Sosa A, Rodríguez Y. La síntesis de proteína microbiana en el rumen y su importancia para los rumiantes. Rev Cub Cienc Agric 2007;41(4):303-311.
- 45 Hervás G, Mandaluniz N, Oregui LM, Mantecón AR, Frutos P. Evolución anual del contenido de taninos del brezo (*Erica vagans*) y relación con otros parámetros indicativos de su valor nutritivo. Inf Téc Eco Agric 2003;99(1):64-84.
- 46 Molina BIC, Cantet JM, Montoya S, Correa GAL, Barahona RR. Producción de metano *in vitro* de dos gramíneas tropicales solas y mezcladas con *Leucaena leucephala* o *Gliricidia sepium*. Rev CES Med Zoot 2013;8(2):15-31.
- 47 Ramírez R, Pizzani P, De Martino G, García D, Linares Z, Colmenares O, *et al.* Estimación *in vitro* de gases con efecto invernadero en frutos y follaje de árboles de un bosque seco tropical de Venezuela. Pastos y Forrajes 2012;35(1):99-108.