

**DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* PRECECAL Y CECAL DE PLANTAS
FORRAJERAS TROPICALES PARA LA NUTRICIÓN EN CERDOS**

JULIANA ISABEL CARVAJAL TAPIA

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
COORDINACION GENERAL DE POSTGRADOS
PALMIRA
2010**

**DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* PRECECAL Y CECAL DE PLANTAS
FORRAJERAS TROPICALES PARA LA NUTRICIÓN EN CERDOS**

JULIANA ISABEL CARVAJAL TAPIA

**Trabajo de grado para optar el título de Magister en CIENCIAS AGRARIAS
área PRODUCCIÓN ANIMAL TROPICAL**

**DIRIGIDO POR:
LUZ ESTELLA MUÑOZ A. Zoot. PhD
COORDINADOR:
NELSON J VIVAS Q. Zoot. MSc**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
COORDINACION GENERAL DE POSTGRADOS
PALMIRA
2010**



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE PALMIRA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ACTA DE JURADO DE TESIS

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRARIAS
LINEA DE INVESTIGACIÓN PRODUCCIÓN ANIMAL TROPICAL

En Palmira a los 02 días del mes de Julio de 2010, se reunió en esta Sede el Jurado Calificador de Tesis, integrado por los doctores PATRICIA AVILA y ARNOBIO LOPEZ

Para calificar la Tesis de Grado de:

JULIANA ISABEL CARVAJAL TAPIA

Titulada:

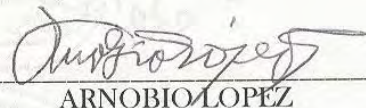
“DIGESTIBILIDAD INVITRO PRECECAL Y CECAL DEL FOLLAJE DE PLANTAS FORRAJERAS TROPICALES PARA LA NUTRICIÓN EN CERDOS” bajo la dirección de Luz Stella Muñoz, Ph.D. y Nelson Vivas, M.Sc.

Después de oír el informe del jurado evaluador compuesto por los docentes PATRICIA AVILA y ARNOBIO LOPEZ, y de haber cumplido con el proceso de evaluación, la tesis fue calificada como:

APROBADA

REPROBADA


PATRICIA AVILA


ARNOBIO LOPEZ

Dedicada a:

Dios y la Virgencita por las bendiciones y permitirme alcanzar una meta más a nivel profesional.

A Mis Padres Blanca, Elmer y mis hermanos (Briyith, Juan Pablo, Duvan y Camilito) por brindarme apoyo incondicional e infinito amor durante toda la vida para crecer a nivel personal y profesional. Los Amo con toda mi alma, mente y corazón

AGRADECIMIENTO

Principalmente a Dios por brindarme la oportunidad de desarrollar una meta más y a todas aquellas personas que han colaborado en la realización de esta tesis en especial:

A mi directora y codirector de tesis Luz Stella Muñoz y Nelson J. Vivas por su gran dedicación, orientación, consejos, apoyo, paciencia y por creer en mí.

A Carlos Montoya y Fernando Estrada por su colaboración en el laboratorio y constante apoyo durante la realización de las pruebas.

A los jurados Patricia Avila y Arnobio López por las valiosas orientaciones y contribuciones a este trabajo

Al Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT Palmira, Programa de Forrajes y Grupo de Investigación de Nutrición Agropecuaria – Universidad del Cauca por brindarme herramientas e insumos valiosos para la culminación del trabajo.

A la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira especialmente Laboratorio de Nutrición animal y Biología molecular por la paciencia y apoyo en la realización de las pruebas de laboratorio.

A la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca por la constante colaboración recibida durante la culminación del proyecto.

A mis padres y hermanos por la ayuda incondicional

A mis amigas Paola, Paula, Angela y Jimena por contar con una sincera amistad, por acompañarme siempre en los buenos y malos momentos apoyándome y animándome en todo este proceso.

Todas aquellas personas que de alguna u otra manera contribuyeron en la realización de este proyecto.

La facultad y los jurados de tesis no se harán responsables de las ideas emitidas por el autor

Artículo 24, resolución 04 de 1974

CONTENIDO

pág.

INTRODUCCIÓN	17
1. OBJETIVOS	19
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	20
2.2. ESPECIES FORRAJERAS UTILIZADAS EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL	20
2.2.1 Usos y condiciones agronómicas y ambientales	21
2.2.1.1 Leguminosas forrajeras de cobertura	22
2.2.1.2 Leguminosas forrajeras de hábito de crecimiento herbáceo	22
2.2.1.3 Leguminosas arbustivas.....	23
2.2.1.4 Especies forrajeras no leguminosas.....	25
2.3 Características nutricionales de los forrajes	27
2.3.1. Propiedades bioquímicas de las proteínas del follaje.....	29
2.3.1.1 Clasificación y composición de las proteínas	30
2.3.2 Aspectos químicos y funcionales de la fibra	32
2.3.2.1 Caracterización de la fracción fibrosa.....	35
2.3.2.2 Propiedades físico-químicas de la fibra dietética	37
2.3.2.3 Efecto de la fibra en animales monogástricos	38
2.3.3. FACTORES ANTINUTRICIONALES (FAN)	41
2.3.3.1 FAN en follajes tropicales.....	43
2.3.3.1.1 Fenoles y Taninos condensados	44
2.3.3.1.2 Polisacaridos no almidonosos	45
2.4 Digestibilidad de forrajes en monogástricos	46
2.5 Aspectos influyentes en la digestibilidad de proteínas y carbohidratos ...	51
2.5.1 Digestibilidad de proteínas	51

2.5.2 Digestibilidad y/o fermentación de carbohidratos no almidonados.....	53
2.6. Técnicas Digestibilidad in vitro	53
3. MATERIALES Y METODOS	55
3.1 LOCALIZACIÓN	55
3.2 MATERIALES.....	55
3.2.1 Material biológico	55
3.2.2. Insumos.....	56
3.3 METODOLOGÍA.....	57
3.3.1 Composición química	57
3.3.2 Prueba de digestión prececal in vitro y cinética de hidrólisis enzimática de las proteínas.....	58
3.3.2.1 Proteasas	58
3.3.2.2 Procedimiento predigestión in vitro en cerdos.....	58
3.3.2.3 Cinética de hidrólisis enzimática de la proteína.....	60
3.3.3 Fermentación cecal in vitro (Producción y cinética de gas).....	61
3.3.3.1. Protocolo de fermentación en jeringas	61
3.3.4 Determinación de los ácidos grasos volátiles.....	62
3.3.5. ELECTROPHORESIS SDS-PAGE	63
3.4 CALCULOS ESPECÍFICOS	63
3.4.1. Prueba prececal in vitro.....	63
3.4.2 Cinética de hidrólisis in vitro del N.....	64
3.4.3. Prueba de fermentación cecal in vitro	64
3.5 ANALISIS ESTADÍSTICO	64
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	66
4.1. Composición nutricional	66
4. 2 Digestibilidad enzimática in vitro prececal de Materia seca (MS) y Energía.....	69

4. 3 Cinética de la hidrólisis enzimática de la proteína	71
4. 4 Fermentación cecal in vitro.....	75
4. 4.1 Cinética de producción de gas	75
4. 4.2. Parámetros de fermentación	76
4.4.2.1 Producción final (Pf)	78
4.4.2.2 Latencia (L)	79
4.4.2.3 Tiempo medio de la asíntota para la mayor producción de gas (h) (T/2).....	80
4.4.3. Producción de Ácidos Grasos Volátiles (AGV).....	82
4.5. Perfil electroforético de las proteínas solubles de forrajes leguminosas.	84
4.6. Correlación de las variables evaluadas	85
5. CONCLUSIONES	90
6. RECOMENDACIONES	91
BIBLLIOGRAFIA	92

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1 Rendimiento de follaje de especies forrajeras utilizadas en la alimentación animal	27
Tabla 2. Composición nutricional de algunas forrajeras usados en nutrición animal.	28
Tabla 3 Contenido de macro- y micro-minerales de algunos forrajes	28
Tabla 4 Composición de aminoácidos en hojas de especies forrajeras.....	29
Tabla 5 Fracción proteica de <i>Trichanthera gigantea</i> , <i>Leucaena leucocephala</i> y <i>Mucuna pruriens</i>	31
Tabla 6 Fraccionamiento de la fibra dietética en harinas de follajes tropicales	36
Tabla 7 Propiedades físicas de la fibra dietética de fuentes fibrosas tropicales	37
Tabla 8 Efectos mayores de FAN en animales monogástricos de la granja.	42
Tabla 9 Contenido de polifenoles y taninos (P&T) en follajes	43
Tabla 10 Contenido de FAN en especies forrajeras tropicales	44
Tabla 11 Taninos encontrados en follajes de leguminosas con diferente método de secado	45
Tabla 12 Valores de digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS, FDN e indicadores de fermentación <i>in vitro</i> de cinco plantas forrajeras tropicales en conejos	47
Tabla 13 Digestibilidad de hojas de árboles forrajeros	47
Tabla 14 Digestibilidad <i>in vitro</i> (pepsina/pancreatina) de harina follaje de morera	47
Tabla 15 Digestibilidad aparente e ileal en dietas incorporando forrajes en la alimentación en cerdas (190-240 kg).....	48
Tabla 16 Digestibilidad ileal <i>in vivo</i> de dietas de zeolita y harina de <i>Leucaena</i> en cerdos.	49
Tabla 17 Digestibilidad <i>in vivo</i> de dietas con diferentes inclusiones de <i>Leucaena</i>	49

Tabla 18 Digestibilidad materia seca, energía y nitrógeno y composición nutricional de dietas experimentales con <i>Stylosanthes guianensis</i> en cerdos con peso 22kg.....	50
Tabla 19 Digestibilidad <i>in vitro</i> de materia seca (DIVMS) y Proteína (DIVPC) en diferentes especies forrajeras.....	51
Tabla 20 Materiales vegetales evaluados en el presente trabajo de tesis	56
Tabla 21 Principales materiales y equipos utilizados en el análisis de laboratorio	56
Tabla 22 Análisis de laboratorio en determinación composición química, fibra y energía.....	57
Tabla 23 Composición química del follaje de leguminosas forrajeras tropicales y la torta de soya.....	66
Tabla 24 Contenido de proteína de algunas leguminosas forrajeras	67
Tabla 25 Composición fracción fibrosa de forrajes	68
Tabla 26 Digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS y Energía de Leguminosas forrajeras, Bore (Xs) y Torta de soya	69
Tabla 27 Digestibilidad de Materia Seca (MS) y Energía (E) de leguminosas forrajeras.....	71
Tabla 28 Digestibilidad <i>in vitro</i> de proteína de forrajes y torta de soya.....	73
Tabla 29 Variables de fermentación de follajes forrajeros y torta de soya con el modelo de France <i>et al.</i> (1993) y producciones de ácidos grasos volátiles después de la fermentación <i>in vitro</i> (30 h de incubación) y (99h de incubación).	77
Tabla 30 Correlación de variables evaluadas	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Clasificación Polisacáridos no almidonosos (PNA), fuentes de procedencia y principales efectos fisiológicos	33
Figura 2 Ilustración proceso protocolo de digestión prececal de proteína y tiempos de toma de muestra de la cinética de proteína.....	59
Figura 3 Ilustración proceso de filtrado material no hidrolizado en el proceso de digestión prececal	60
Figura 4 Baño maría utilizado para la cinética de hidrólisis <i>in vitro</i> de las proteínas del follaje de leguminosas tropicales y controles (Bore y torta de soya).....	60
Figura 5 Partes de jeringas utilizadas en la prueba de fermentación <i>in vitro</i>	61
Figura 6 Baño maría a 39°C utilizado para las fermentaciones cecales <i>in vitro</i> en jeringas	62
Figura 10 Producción de gas total en 30 y 99 horas de incubación de forrajes y torta de soya	81
Figura 11 Patrón electroforético (SDS-PAGE) de las proteínas solubles del follaje de leguminosas. Marcador de peso molecular (M) se indican en el extremo derecho	84
Figura 12 Patrón electroforético (SDS-PAGE) de las proteínas solubles del follaje de leguminosas y torta de soya. Marcador de peso molecular (M) se indican en el extremo derecho	85
Figura 13 Cluster Especies forrajeras y Torta de soya	88

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A Procedimiento preparación soluciones digestibilidad prececal <i>in vitro</i> ..	107
Anexo B Procedimiento preparación de soluciones para prueba Fermentación cecal <i>in vitro</i>	108
Anexo C Procedimiento preparación de soluciones para electroforesis SDS-PAGE	109

ABREVIATURAS MÁS UTILIZADAS

AA: Aminoácidos
ALB: Albuminas
Ca: *Cratylia argentea*
Cb: *Canavalia brasiliensis*
Cbra: *Centrosema brasilianum*
CEL: Celulosa
Cm: *Centrosema molle*
DIV: Digestibilidad *in vitro*
DMS: Digestibilidad de la materia seca
Dv: *Desmodium velutinum*
EB: Energía bruta
ED: Digestibilidad de la Energía
EE: Extracto etéreo
FAN: Factores antinutricionales
FB: Fibra bruta
FDA: Fibra detergente Acida
FDN: Fibra detergente neutra
GLB: Globulinas
GLT: Glutelinas
HEM: Hemicelulosa
LDA: Lignina
Lp: *Lablab purpureus*
MO: Materia orgánica
MS: Materia seca
N: Nitrógeno
NDS: Fracción soluble
PC: Proteína cruda
PNA INSOLUBLES: Polisacáridos no almidonosos insolubles en agua.
PNA SOLUBLES: Polisacáridos no almidonosos solubles en agua
PRL: Prolaminas
Sg: *Stylosanthes guianensis*
TS: Torta de soya
Vu: *Vigna unguiculata*
Xs: *Xanthosoma saggitifolium*

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar nutricionalmente el follaje de leguminosas tropicales Canavalia (*C. brasiliensis*), Desmodium (*D. velutinum*), Caupi (*V. unguiculata*), Stylosanthes (*S. guianensis*), Cratylia (*C. argentea*), Lablab (*L. purpureus*), Centrosema (*C. molle*) y *Centrocema brasilianum* mediante pruebas de composición química, digestibilidad *in vitro* prececal de materia seca, (DIVMS) energía (DIVE) y proteína (DIVP) y fermentación *in vitro* cecal. Se encontró *C. molle* y *V. unguiculata* tuvieron valores superiores en DIVMS y DIVE sin presentar diferencias estadísticas significativas ($P < 0,001$) los valores menores fueron para *S. guianensis* y *C. brasilianum*; las leguminosas *C. molle*, *C. argentea* y *D. velutinum* presentaron DIVP de 62,2; 61,4 y 59,7% respectivamente. A las 99 horas de fermentación, la mayor producción de gas, ácidos grasos volátiles totales (AGVT) y ácido acético, la tuvieron *X. saggitifolium* y *V. unguiculata*, (207,5 – 218,7 ml; 66,1-68,5; 36-38mmol/l respectivamente). Una vez identificadas las variables más asociadas en un análisis de componentes principales, se formaron clusters CL, el coeficiente de determinación (R^2) manifiesta que el 84,3% de la variación encontrada, fue explicada por el modelo estadístico utilizado. Los CL indicaron 4 agrupaciones CL 1: *C. molle*, *D. velutinum*, *V. unguiculata* y *C. argentea* especies con Proteína cruda (PC) 185-241g/KgMS, y Cel (Celulosa) 130-211 g/KgMS, excepto *V. unguiculata* en DIVP tuvieron DIVMS, DIVE y DIVP superior al 60%; producción de AGVT superior a 52mmol/l, a las 30 horas de fermentación alcanzaron 69% de producción de AGVT de su potencial. CL 2: *L. purpureus*, *C. brasiliensis* y *X. saggitifolium*: Especies con PC de 216 – 236 g/Kg MS; FDN 311-347 g/Kg MS y cel 127-138g/Kg MS; con una DIVMS de 48,6-61,8% y DIVP 44,1 – 46,0%. Las leguminosas de este grupo tuvieron una producción de gas total de 160 – 183 ml, el 80% de la producción fue alcanzada a las 30 horas de fermentación, y producción de AGVT más bajos de todas las demás especies 31,2 – 33,9 mmol/l. *X. saggitifolium* tuvo similar comportamiento en la composición química, DIVMS, DIVE y DIVP pero fue una de las especies de mayor producción de gas 218,7ml y AGVT 68,5mmol/l. CL 3 *C. brasilianum* y *S. guianensis*; especies con alto contenido de FDN 470-578 g/KgMS que afecta principalmente la DIVMS y DIVE, baja producción de gas y el 79% de la producción de AGVT fue alcanzada a las 30 horas de fermentación. CL 4: T. soya Especie no forrajera, sobresalió en toda la evaluación. Las leguminosas forrajeras promisorias para la alimentación de cerdos de acuerdo a su composición química, digestibilidad y fermentación *in vitro* son: Caupi (*V. unguiculata*); Centrosema (*C. molle*); Desmodium (*D. velutinum*) y Cratylia (*C. argentea*) contrario de las especies *S. guianensis* y *C. brasilianum* que presentaron bajo comportamiento. Existe dos clases de proteínas que son comunes en los forrajes de leguminosas como subunidades grandes de rubisco y Proteína vegetativa de almacenamiento foliar (VSP) que por su alto contenido en aminoácidos esenciales le da un alto valor agregado al contenido y composición aminoacídica, lo cual los hace viable para la alimentación de monogástricos y una opción económica para pequeños productores.

Palabras Clave: Leguminosas tropicales, digestibilidad *in vitro* prececal, fermentación *in vitro* cecal, ácidos grasos volátiles, especies forrajeras promisorias

ABSTRACT

In order to evaluate nutritionally foliage of tropical legumes *Canavalia* (*C. brasiliensis*), *Desmodium* (*D. velutinum*), *Cowpea* (*V. unguiculata*), *Stylosanthes* (*S. guianensis*), *Cratylia* (*C. argentea*), *Lablab* (*L. purpureus*), *Centrosema* (*C. molle*) and *Centrocema brasilianum* by chemical tests, *in vitro* digestibility of dry matter prececal (DIMS) energy (DIVE) and protein (DIVP) and cecal fermentation *in vitro*. It was found and *V. unguiculata* y *C. molle* had higher values in IVDMD and DIVE without no differences statistically significant ($P < 0.001$) minor values were for *S. guianensis* and *C. brasilianum*, and legumes *C. molle*, *C. argentea* and *D. velutinum* presented DIVP 62.2, 61.4 and 59.7% respectively. At 99 hours of fermentation, major production of gas, volatile fatty acids (AGVT) and acetic acid, the had *X.saggitifolium* and *V. unguiculata* (207.5 to 218.7 ml, 66.1 to 68.5, 36-38mmol respectively). Once we identified variables more associated in a principal component analysis, clusters CL are formed; coefficient of determination (R^2) states that 84.3% of the variation found was explained by the model used.

The CL showed four groups CL 1: *C. molle* *D. velutinum*, *V. unguiculata* and *C. argentea* species crude protein (CP) 185-241g/KgMS and Cel (Cellulose) 130-211 g / kgMS, except *V. unguiculata* in DIVP had IVDMD, DIVP DIVE and more than 60%, production of AGVT than 52mmol, at 30 hours of fermentation reached 69% of production AGVT its potential. CL 2: *L. purpureus*, *C.* and *X. brasiliensis saggitifolium*: PC species with 216-236 g / kg DM, 311-347 g NDF / kg DM and MS 127-138g/Kg cel, with a 48.6 to 61.8% and IVDMD DIVP 44.1 to 46, 0%. The legumes in this group had a total gas production 160-183 ml, 80% of production was reached after 30 hours of fermentation and production of AGVT lowest of all other species from 31.2 to 33.9 mmol / l. *X saggitifolium* had similar behavior in chemical composition, IVDMD, DIVE and DIVP but it was one of species of higher gas production AGVT 218.7 ml and 68.5 mmol / l. CL 3 *C. brasilianum*, *S. guianensis*, species with high content of 470-578 g NDF / kgMS affecting IVDMD and DIVE, low production of gas and 79% of production was reached at AGVT 30 hours of fermentation. CL 4: T. non forage species, excelled in all tests.

Promising forage legumes for feeding pigs according to their chemical composition, digestibility and fermentation *in vitro* are: *Cowpea* (*V. unguiculata*) *Centrosema* (*C. molle*); *Desmodium* (*D. velutinum*) and *Cratylia* (*C. argentea*) in contrary of species *S. guianensis* and *C. brasilianum* had low performance. There are two classes of proteins are common in forage legumes such as Rubisco large subunits and vegetative storage protein leaf (VSP) by its high content of essential amino acids gives a high value added content and amino acid composition, which makes it viable to feed monogastric and an economical option for small producers.

Keywords: tropical legumes, prececal *in vitro* digestibility, *in vitro* cecal fermentation, volatile fatty acids, promising forage species

INTRODUCCIÓN

En los países tropicales, en general en desarrollo, una alta proporción de la producción de cerdos es realizada por pequeños porcicultores; En Colombia, el 75% de la producción porcina es generada por estos productores, los cuales están en riesgo debido: a las políticas globales de mercadeo (políticas arancelarias y tributarias); a la producción de biocombustibles partiendo de fuentes originalmente utilizadas en alimentación humana y animal (ej. caña de azúcar, maíz, yuca, remolacha) y a el alto precio de los cereales y fuentes de proteína en el mercado mundial. Por lo tanto, en la actualidad se está tratando de implementar la utilización de alimentos locales en la producción porcina como una alternativa nutritiva y de bajo costo.

Entre las alternativas más interesantes de alimentación están los granos de leguminosas (Torres, 2009) y los follajes arbóreos y arbustivos; los cuales, además de sus altos contenidos en proteína, tienen una amplia disponibilidad en el trópico, no compite con la alimentación humana y contempla una serie de ventajas ambientales (Preston y Murgueito, 1992). Al respecto el CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) ha centrado sus investigaciones en cultivos forrajeros tropicales especialmente leguminosas (de grano y/o forraje) para ser adaptados en sistemas de explotaciones pecuarias. Esto con el objetivo de mejorar la calidad de los suelos y darle al productor la oportunidad de producir ingredientes de alto valor nutricional que pueden ser usados en producción pecuaria.

La mayoría de estudios realizados con leguminosas en la alimentación de monogástricos, han sido especialmente utilizando sus granos. Por ejemplo, los granos de Caupi (*Vigna unguiculata*), Guandul (*Cajanus cajan*) y el *Sophocarpus tetragonolobus* tienen el potencial para conformar el componente proteico de las raciones para monogástricos, por su contenido de proteínas, energía y otros nutrientes (León et al., citado por Aguirre, 2009).

El follaje de leguminosas ha sido incluido ampliamente con éxito en dietas para rumiantes, debido a su alto valor proteico y bajo contenido de factores antinutricionales. Sin embargo, su alto contenido de fibra y bajo valor energético limita su utilización en animales monogástricos. Los escasos estudios de inclusión de forrajes en dieta para monogástricos han demostrado que estos son una estrategia apropiada para lograr sistemas de producción socialmente deseables y económicamente viables. Además, contribuyen a la preservación de la diversidad biológica y no compitan con la nutrición humana. Pero esta información está centrada en pocas especies forrajeras como Nacadero (*Trichanthera gigantea*), Leucaena (*Leucaena leucocephala*) Alfalfa (*Medicago sativa*) y Bore (*Xanthosoma saggitifolium*) creando la necesidad de buscar y estudiar otras especies adaptadas a climas tropicales.

El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar a través de la composición química y técnicas *in vitro* que simulan la hidrólisis enzimática (digestión estomacal e ileal) y la fermentación del intestino grueso, el potencial

nutricional de leguminosas forrajeras tropicales (*Canavalia brasiliensis*, *Vigna unguiculata*, *Lablab purpureus*, *Cratylia argentea*, *Desmodium velutinum*, *Centrosema molle*, *Centrosema brasilianum* y *Stylosanthes guianensis*), disponibles para el pequeño productor porcícola como fuentes *alternativas* de proteína.

Este trabajo hace parte de la investigación del grupo de Nutrición Animal MNCP, financiada por DIPAL y por la Agencia de desarrollo Alemán Bundesministerium für Wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (BMZ) con el proyecto “more chicken and pork in the pot and Money in pocket: improving forages for monogastric animals with low- income farmers”

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la composición nutricional, la hidrólisis enzimática *in vitro* y la fermentación *in vitro* del follaje de leguminosas tropicales (*Canavalia brasiliensis*, *Desmodium velutinum*, *Vigna unguiculata*, *Stylosanthes guianensis*, *Cratylia argentea*, *Lablab purpureus*, *Centrosema Molle* y *Centrosema brasilianum*) como posibles fuentes de proteína para la nutrición porcina.

1.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la composición química de las diferentes leguminosas forrajeras tropicales.
- Estimar la digestibilidad enzimática *in vitro* prececal de la materia seca (MS) y energía del follaje de leguminosas.
- Cuantificar la fermentación cecal mediante una prueba *in vitro* (cinética de producción de gas en jeringas) de acuerdo al modelo de France *et al.* (1993). Igualmente, medir los productos finales de la fermentación (ácidos grasos volátiles AGV).
- Determinar la cinética de la digestibilidad *in vitro* de las proteínas.
- Identificar las proteínas existentes en los forrajes de leguminosas mediante electroforesis.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. PRODUCCIÓN PORCINA EN COLOMBIA

La porcicultura colombiana se ubica en el séptimo lugar del continente en lo referente a la producción de carne, con cerca de 152 mil ton/año y cuenta con un inventario de rotación cercano a los 2.8 millones de cabezas (Daza, 2002). El comportamiento de la producción de cerdo en Colombia se ha caracterizado por su irregular desempeño a través del tiempo, principalmente por los altos costos de producción representados en la alimentación a base de concentrados y por las fluctuaciones en el precio de la carne de cerdo.

De acuerdo a la caracterización realizada por la Asociación Colombiana de Porcicultores ACP, las producciones porcinas se dividen en tres tipos de acuerdo al número de animales en proceso de ceba que maneja: Grande 300 animales, mediana entre 100 y 300 animales y pequeños que atienden menos de 100 animales, (SIPSA, 2007). Este último, representa el 75% de la producción porcina a nivel nacional (Botero, 2004). En el país se reconocen cuatro regiones dedicadas a la producción de carne de cerdo, en donde se concentra el 86% de la producción nacional: Antioquia, Cundinamarca, Valle del Cauca y el Eje Cafetero, indicando como mayor productor de carne de cerdo al departamento de Antioquia, el cual aporta el 40% del total de la producción (SIPSA, 2007).

2.2. ESPECIES FORRAJERAS UTILIZADAS EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL

Las especies forrajeras han sido utilizadas con éxito en especies rumiantes, debido a que su fisiología digestiva le permite aprovechar la mayoría de fibras como fuente de energía y demás nutrientes. En los últimos años, la utilización de forrajes de plantas tropicales está siendo estudiada como fuentes alternativas de proteínas para la alimentación de monogástricos a bajo costo.

Debido a la amplia diversidad y características de adaptación a gran cantidad de ecosistemas en climas tropicales las plantas forrajeras ofrecen perspectivas como solución biológica, práctica y viable para la alimentación animal. Sin embargo, la mayoría de estas fuentes no convencionales, en general presentan un alto contenido de humedad y fibras, lo que influye como limitante para la incorporación en altas cantidades en la dietas para cerdos (Botero, 2004). Además, el nitrógeno en ocasiones está ligado a compuestos antinutricionales, por lo que deben emplearse con precaución en las dietas destinadas a monogástricos (Gonzales, 2005).

Diversos investigadores han centrado sus trabajos en el uso de follaje de especies arbustivas, arbóreas y leguminosas en la alimentación de monogástricos destacando aspectos positivos y negativos en la nutrición animal. A continuación se presenta una recopilación de trabajos aplicados a este tema.

2.2.1 Usos y condiciones agronómicas y ambientales

La acidez de los suelos asociado con la infertilidad y toxicidad de minerales, son las principales limitantes para la producción en los países tropicales (Rao *et al.*, 1993). Los suelos ácidos están distribuidos en extensas áreas del trópico húmedo y subtropical (Van Wambeke, 1976). Ellos representan una importante área cubriendo 850 millones de hectáreas en América Tropical, 450 millones de hectáreas en África tropical, y 210 millones de hectáreas en Asia Tropical (Rao *et al.*, 1993).

El mejoramiento de sistemas de producción de agricultura sustentable para esos suelos, podría contribuir a disminuir o aliviar la degradación de los recursos y desarrollar sistemas productivos competentes. Por tal motivo, diferentes entidades colombianas (ej. Universidades y CIAT) han enfocado sus investigaciones a cultivos potencialmente adaptables a condiciones de suelos ácidos y épocas de sequía prolongadas, que permitan la recuperación del suelo y suministren forraje para la alimentación porcina.

Peters (2004) plantea algunos criterios de calidad agronómica para uso de forrajeras en la alimentación de monogástricos como:

Facilidad de establecimiento

Alto rendimiento de materia seca

Continuidad de cosecha durante el año (respuesta a la demanda del mercado): material persistente permitiendo cortes frecuentes, material rápido que permite siembras graduales.

Tolerante a plagas y enfermedades

Usos adicionales (ejemplo: abonos, consumo humano, leña)

Producción de semilla

Buena relación insumo/rendimiento

Las especies forrajeras que más se han utilizado en la alimentación de monogástricos como fuentes de proteína incluyen especies de: diferentes estratos (arbóreas, arbustivas), diferentes condiciones de adaptación

agronómica, rendimientos y usos. Las más comunes son especies leguminosas como *Leucaena leucocephala*, *Canavalia*, *Vigna*, *Centrosema*, *Cratylia argentea*, y otras no leguminosas como *Trichanthera gigantea*, *Morus alba*, *Xanthosoma saggitifolium*

2.2.1.1 Leguminosas forrajeras de cobertura

Son usadas además para conservación de suelos, abono verde, mejoramiento de la estructura del suelo y ciclaje de nutrientes (fijación de nitrógeno).

Vigna unguiculata, Ha sido ampliamente estudiado y cultivado en África, India, EE.UU. Cuba, Venezuela, Colombia y Brasil. En Centroamérica, se usa marginalmente por grupos de agricultores en el sur de Honduras y norte de Nicaragua, pero no se ha hecho mucha investigación ni esfuerzos de diseminación (Oporta y Rivas, 2006). En Africa el follaje y grano se utilizan para alimentación humana.

En la Costa Atlántica Colombiana (Atlántico, Bolívar, Sucre, Magdalena y Córdoba), es una de las leguminosas preferidas especialmente las variedades de semilla roja y blanca, junto con el guandul (*Cajanus cajan*), la habichuela (*Vigna sesquipedalis*) y la caraota (*Phaseolus lunatus*) para alimentación humana. *V. unguiculata* se utiliza como abono verde para cultivos como maíz, reemplazando el equivalente a una aplicación de nitrógeno de 80 kg/ha (Peters, 2002). Las hojas y flores se utilizan para la elaboración de heno y ensilajes utilizados en la alimentación animal (Cook *et al.*, 2005).

Lablab purpureus. Su grano es usado para el consumo humano y animal, al igual que sus flores y vainas inmaduras. En Asia meridional y suroriental y África oriental es usado para el consumo humano (Cook *et al.*, 2005); Se utiliza como leguminosa forrajera en pastoreo, corte y acarreo para alimentación animal. Se incorpora en los sistemas de cultivos con cereales para trabajar la fertilidad del suelo. Esta especie se siembra como monocultivo o en sistemas intercalados (Cook *et al.*, 2005) tiene buen comportamiento agronómico para la producción de forrajes. Se mantiene verde durante estación seca. Es una especie altamente adaptable, no solamente es resistente sino también capaz de crecer en condiciones ambientales extremas (Murphy, 1999).

2.2.1.2 Leguminosas forrajeras de hábito de crecimiento herbáceo

Stylosanthes guianensis. Se adapta bien a diferentes suelos, pero prefiere suelos de baja fertilidad y ácidos, bien drenados y con pH de 3,5 a 6,5. Rebrotan después de una quema y tolera sequía. Permanece verde por un tiempo largo, pero no tolera humedad excesiva y pisoteo. Responde bien en asociación con gramíneas de porte erecto como los *Panicum maximum*, *Hyparrhenia rufa* y *Andropogon gayanus*. No se comporta bien en asociación con especies estoloníferas tipo *Cynodon*; Soporta bien el pastoreo continuo y rotacional

cuando se asocia con gramíneas de porte erecto, se puede sembrar solo como banco de proteína. También es utilizada para control de erosión. No es muy persistente y se debe resembrar cada 3 a 4 años, funciona bien en sistemas de rotación de cultivos. Es susceptible a antracnosis.

En la actualidad, países en desarrollo como Mozambique y Laos (Maposse et al, (Keoboulapheth y Mikled; citados por Fuentes *et al.*, 2006) han introducido otros cultivares de esta especie. Estas son usadas en ganadería bovina en zonas extremadamente áridas como sucede en muchas zonas de África. Igualmente, para sustituir algún componente en la dieta de otros animales como el arroz para los cerdos en zonas rurales de Asia. En Colombia se utiliza en asociaciones con gramíneas o para producir semilla (Lemus, 2004)

Centrosema brasilianum. Ha sido evaluada especialmente como especie de corte. En Australia, África y América del Sur se conoce como una especie prometedora para condiciones semi-áridas. Es tolerante a suelos ácidos con niveles altos de aluminio, algunas accesiones son resistentes al pastoreo (Cook et al; 2005). Según estudios realizados por Damelys et al. (1995) de adaptabilidad de gramíneas y leguminosas forrajeras concluye que entre los ecotipos más promisorios por su producción y vigor durante la época de lluvias esta *Centrosema brasilianum* accesión CIAT 5234. De acuerdo a estudios desarrollados en Cuba se destacan las accesiones CIAT 5151, CIAT423, PII423, PII89 y particularmente IH 129 ha demostrado un comportamiento excelente bajo condiciones de corte como pastoreo; sobresale por tener características de disponibilidad, consumo, habilidad asociativa, resistencia a la virosis y persistencia (Martin y Machado 1996).

Centrosema molle. Conocida anteriormente como *Centrosema pubescens*, es utilizada como especie de cobertura viva y asocio con pastos. Igualmente, se usa con el fin de ayudar al manejo de malezas, enriquecer la calidad nutricional de pasturas y para la fabricación de henos y ensilajes. Crece en una amplia gama de suelos, desde suelos franco-arenosos hasta los arcillosos. Presenta buena palatabilidad en bovinos, ovejas y cabras, por lo cual es sembrado en potreros asociado a diferentes gramíneas como *Panicum maximum*, *Paspalum atratum* y *Brachiaria* spp. Para evitar perder la cobertura, es necesario manejar un pastoreo rotacional de los animales (Peters, 2002).

Canavalia brasiliensis. Tiene amplia distribución en trópicos y subtrópicos. Se utiliza para mejorar potreros en estaciones secas, en el norte de Brasil los granos son utilizados como alimento de bovinos en época de escasez. La planta se establece rápidamente con buena cobertura del suelo a las 9 semanas y tiene poca incidencia de plagas y enfermedades (Cook et al., 2005).

2.2.1.3 Leguminosas arbustivas

Las leguminosas forrajeras arbustivas tienen potencial para mejorar los sistemas de producción animal, particularmente en zonas subhúmedas del

trópico; su rendimiento de forraje es mayor que el de las leguminosas herbáceas; toleran mejor el mal manejo y tienen la capacidad de rebrotar y ofrecer forraje de buena calidad con sequías prolongadas. Tienen además, otros usos alternativos tales como leña para labores domésticas, barreras vivas rompevientos o para controlar erosión en zonas de ladera (Argel, 2002).

Cratylia argentea. Es de origen suramericano. Ramifica a partir de la base del tallo alcanzando una altura hasta 3m. Aunque inicialmente no crece rápido en suelos calcáreos, después de cierto periodo de tiempo su desarrollo es aceptable, debido posiblemente a que las raíces alcanzan los extractos inferiores en el suelo donde la concentración de calcio es menor, lo que le permite ser una planta apta para suelos ácidos pobres en calcio. *C. argentea*, tiene alta tolerancia a sequía, permanece verde y rebrota en sequías prolongadas de hasta 7 meses, rebrota después de la quema. Produce buenos rendimientos de forraje y tiene la capacidad de rebrotar durante el periodo seco debido a un desarrollo radicular vigoroso (Pizarro, 2005). Se utiliza en asociación con gramíneas, en bancos de proteína, como suplementación de forraje seco o ensilado, la identifican como una de las mejores leguminosas arbustivas adaptadas a suelos infértiles (Peters et al., 2002).

Desmodium velutinum. Tolera suelos ácidos y se comporta bien en época seca. Presenta tres hábitos de crecimiento: erectas, semierectas y rastreras. En Santander de Quilichao (Colombia) se evaluaron 137 accesiones alcanzando cosechas superiores a 200 y 125 g MS/planta con 8 semanas de rebrote en estación de máxima y mínima precipitación, respectivamente (Vivas, 2005); 20 de dichas accesiones fueron destacadas por la baja influencia de plagas y enfermedades, producción de materia seca y calidad nutricional, entre las que se menciona la Accesoión CIAT 33443 evaluada en el presente trabajo.

Gliricidia sepium. Árbol originario de Centroamérica comúnmente conocido como matarratón. Tiene una altura de 10 a 15 m, bien ramificado y siempre verde. Crece bien en condiciones de humedad y calor, floreciendo en altitudes que van desde el nivel del mar hasta 1600 msnm (Gómez et al., 1995). Se desarrolla en una amplia variedad de suelos, incluidos los ácidos y los erosionados. Pero no crece bien en suelos pesados y húmedos (Bernal, 1998 citado por Gómez y Murgueitio, 1995). En Colombia se cultiva con mayor intensidad en los departamentos del Valle, Cauca y Tolima, donde es utilizada como cercas y barreras vivas, banco de proteína, soporte, sombrío, melífera, rodenticida, medicinal, madera, sistemas agroforestal, para corte y acarreo, pigmentos para huevos. No tolera competencia por luz y soporta bien la sequía. Las hojas y semillas son tóxicas para equinos y monogástricos, *G. sepium* es susceptible a plagas en climas húmedos. (Peters, 2002).

Leucaena leucocephala. Es uno de los árboles más extensamente cultivados en el mundo. Su uso incluye una variedad de propósitos: banco de proteína, leña, corte y acarreo, abono verde, sistemas agroforestales, mejoramiento del suelo, concentrado para aves cerdos y rumiantes, pastoreo, barrera vivas y rompevientos, ensilaje, es potencial como maleza. Se usa en muchas partes del trópico como un árbol de sombra o como asocio de especies.. Crece hasta

1800msnm pero su establecimiento es lento. . Se adapta a un rango amplio de suelo con pH 5,5-8, sin embargo, el mejor crecimiento ocurre en suelos bien drenados que van desde moderadamente alcalinos hasta ligeramente ácidos pH 6. No tolera suelos ácidos con pH menores 5, ni heladas (<10°C), sombra e inundación, tolera sequia aunque desfolia en época seca prolongadas. Por su producción abundante de semilla, tiende a formar poblaciones grandes creando formaciones de malezas en cultivos. Es susceptible al ataque de hormigas (Peters, 2002).

2.2.1.4 Especies forrajeras no leguminosas

Trichanthera gigantea. Árbol forrajero, originario del Norte de la región Andina. Su desarrollo óptimo se alcanza desde el nivel del mar hasta los 2500msnm, donde puede desarrollar alturas entre 8 y 12 m. Es usado en la conservación de nacientes de agua, cercas vivas y alimentación animal. Se caracteriza por un amplio rango de adaptación, rusticidad, fácil propagación y alta producción de materia verde. Es aceptado por diversas especies de animales incluyendo monogástricos. El árbol tiene buena producción de forraje sobre todo en los intervalos de corte cada 3 o 4 meses (Arosenema, 2009). Es utilizada como banco de proteína, sistemas silvopastoriles, adaptada a diversos agroecosistemas, tolera suelos ácidos y bajos niveles de fertilización (Murquítio, 1988 citado por Vargas, 2000).

Tithonia diversifolia. Se caracteriza por presentar un gran volumen radicular y una habilidad especial para recuperar los escasos nutrientes del suelo. Presenta un amplio rango de adaptación y de distribución en la zona tropical, debido a que tolera condiciones de acidez y baja fertilidad en el suelo, es muy rustica y puede soportar la poda y quema a nivel del suelo. Además, tiene un rápido crecimiento y baja demanda de insumos y manejo para su cultivo (Mahecha y Rosales, 2009 citado por Burbano y Trochez 2010). En Colombia es usada como cerca viva, flora para apicultura, ornamental, en silvopastoreo para ganado bovino, forraje de corte en la alimentación de cerdos, ovejos, conejos, bovinos y búfalos. En otros países se utiliza como atrayente de especies benéficos en cultivos, como antiparasitario para animales, paja para cama en ganadería y abono verde (Ojeda 2003, citado por Burbano y Trochez; 2010).

Morus alba. Se localiza en variedad de ambientes, crece en zonas seca y húmedas, no tolera suelos de mal drenaje o muy compactos, tiene altos requerimientos nutricionales por eso la fertilización permanente es necesaria. Tradicionalmente se utiliza para la alimentación del gusano de seda, pero también se utiliza como corte y acarreo, sombra y como planta ornamental. Por su celeridad de establecimiento, presenta un buen potencial para el control de erosión, especialmente en áreas con grandes pendientes. Debido a su alta retención de hojas durante el periodo seco, tiene un alto potencial forrajero durante las épocas secas. Tolerancia al corte realizado a nivel del suelo a mediados del periodo seco (Pizarro, 1999). Desarrolla un sistema radicular

vertical fuerte y profuso horizontal (Paolieri, 1970 citado por Boschini et al., 1998). Estas características mejoran las condiciones físicas del suelo y permiten una mayor conservación del agua. Puede establecerse intercalada con otras especies forestales y cultivos. En cultivo para la producción de forraje, la morera ha mostrado excelentes características organolépticas y un alto consumo por el ganado (Benavides et al, citado por Boschini et al., 1998).

Xanthosoma saggitifolium. Considerada como una hierba gigante, puede alcanzar hasta 5 m de alturas y sus hojas hasta 1 m de largo. Es eficiente captando energía solar bajo condiciones de sombra, importante para asociarla con otras especies arbóreas. Crece rápidamente y se adapta bien en diversas zonas pasando por los climas medios hasta cálidos y suelos pantanosos y de baja fertilidad. En sus tallos se acumulan carbohidratos en forma de almidón y sus hojas cantidades importantes de proteína, características que la convierte en una especie promisoría para la alimentación de cerdos y aves. Se desarrolla en diferentes suelos, incluyendo los ligeramente ácidos, secos, pesado y húmedos (o cenagosos) y aledaños a cursos de agua. Crece bien a libre exposición pero alcanza un mayor desarrollo en zonas bajas, en sitios con cierto nivel de sombra. En cuanto a la utilización en la alimentación humana el principal factor limitante para el uso, ha sido la presencia de oxalatos de calcio, que son irritantes y la presencia de taninos, que pueden ser eliminados mediante la cocción (león, 1987 citado por Gómez, 2007). Otras se cultivan para el consumo de tallos subterráneo corno (acumulan almidones) y también por sus hojas que son utilizadas como verdura (hoja más tierna que aún permanece enrollada). Ha sido utilizado para la producción de almidones para la fabricación de productos procesados naturales. Algunas son utilizadas como ornamentales con gran variedad de colores y forma de sus hojas (Gómez, 2007).

La producción de materia seca de follaje de cada una de las especies mencionadas anteriormente se presenta en la Tabla 1, donde se destaca altas producción de las especies arbustivas o arbóreas *C. argentea*, *G. sepium* y *M. alba*

Tabla 1 Rendimiento de follaje de especies forrajeras utilizadas en la alimentación animal

Especie	Ton MS/ha año	Referencia
Leguminosas de cobertura y abono verde		
<i>Vigna unguiculata</i>	3 – 10*	Cook et al., 2005
<i>Lablab purpureus</i>	6	Cook et al., 2005
Leguminosas Herbáceas		
<i>Stylosanthe guianensis</i>	5 – 10	Cook et al., 2005
<i>Centrosema brasilianum</i>	3 – 10	Cook et al., 2005
<i>Centrosema molle</i>	12	Cook et al., 2005
<i>Canavalia brasiliensis</i>	5 – 10	Cook et al., 2005
Leguminosas Arbustivas		
<i>Cratylia argentea</i>	14 – 20	Cook et al., 2005
<i>Desmodium velutinum</i>	14,2	Vivas, 2005
<i>Gliricidia sepium</i>	20	Cook et al., 2005
<i>Leucaena leucocephala</i>	1 – 15	Cook et al., 2005
No leguminosas		
<i>Trichanthera gigantea</i>	8 – 17	Ríos, 2001
<i>Tithonia diversifolia</i>	7 – 18	Burbano y Trochez, 2010
<i>Morus alba</i>	16 -25	Boschini, 2009
<i>Xanthosoma saggitifolium</i> en asociación	12	Gómez, 2007

*después 8 a 12 semanas de establecimiento

2.3 Características nutricionales de los forrajes

La sustitución parcial de cereales por fuentes fibrosas en experimentos que han evaluado el comportamiento productivo, han propiciado máxima eficiencia económica pero no biológica. Por tal razón es necesario analizar detalladamente factores del alimento como: a. Valor nutritivo y caracterización de la fibra (origen, composición química, morfológica y estructural, propiedades físico-químicas) así como el contenido de factores antinutricionales. b. Interacción de estos factores y sus efectos en los procesos digestivos y en la fisiología animal que pueden limitar la incorporación en las dietas. c. Optimización del uso de las fuentes fibrosas (nivel de fibra, especie, raza y estado fisiológico del animal). d. mejoramiento de su potencial energético y contribución al metabolismo animal

La composición nutricional del follaje dependerá de la proporción tallo y hoja, del hábito de crecimiento, de la edad de corte o rebrote, de las condiciones en el suelo que se desarrolle, etc. La composición nutricional de los árboles y/o leguminosas forrajeras está determinada por la especie y su hábito de crecimiento. El principal componente de los forrajes está representado por la fibra (316 a 718 g/kg MS) y por la proteína (118 a 241 g/kg MS) (Tabla 2). El restante está representado por el contenido de minerales (87 a 17 g/kg MS). En la Tabla 3 se presenta la composición más detallada de los macro- y micro-minerales de algunas especies forrajeras.

Tabla 2. Composición nutricional de algunas forrajeras usados en nutrición animal.

Especie	PC	Cen	FDN	FDA	Hem	Cel	LDA	Referencia
Leguminosas								
<i>C. brasiliensis</i>	236,0	144,0	343,0	155,0	188,0	126,0	29,0	Osorio, 2007
<i>V. unguiculata</i>	185,0	125,0	316,0	167,0	149,0	146,0	21,0	Osorio, 2007
<i>L. purpureus</i>	210-380		717,8	499,2	218,6	314,2	185	Martinez, 2008
<i>S. guianensis</i>	145,0	87,0	578,0	353,0	225,0	289,0	55	Osorio, 2007
<i>C. brasilianum</i>	118-193							Cook et al., 2005
<i>C. molle</i>	170-260							Cook et al., 2005
<i>C. argentea</i>	233,0	116,0	506,0	259,0	247,0	194,0	65,0	Osorio, 2007
<i>D. velutinum</i>	241,0	102,0	467,0	242,0	225,0	206,0	36,0	Osorio, 2007
<i>L. leucocephala</i>	220-300	65-107	300-450					Osorio, 2007
<i>G. sepium</i>	235,0	82,0	397,0	201,0	196,0	129,0	72,0	Osorio, 2007
No leguminosas								
<i>T. gigantea</i>	200,9	163,0	402,0	163,1	238,9	110,4	163,0	Botero, 2004
<i>M. alba</i>	196,5	128,0	423,9	173,8	250,1	122,2	128,0	Botero, 2004
<i>T. diversifolia</i>	210-280	170	355,0	304,0	Nd	Nd	Nd	Sarria et al 1999 y Maecha 1999
<i>X. saggitifolium</i>	208,7	98,0	468,1	205,6	264	137,1	98,0	Botero, 2004

PC: Proteína cruda, Cen: Cenizas, FDN: Fibra Detergente Neutra, FDA: Fibra detergente Acida, Hem: Hemicelulosa, Cel: Celulosa, LDA: Lignina

Tabla 3 Contenido de macro- y micro-minerales de algunos forrajes

	<i>T. gigantea</i>	<i>M. alba</i>	<i>X. saggitifolium</i>
Macroelementos (g/kg MS)			
Calcio	49-69	17-31	20-26
Fosforo	1,5-2	2-5	3-7
Potasio	23-35	25-51	35-42
Sodio	0,3-0,6	0,2-0,5	0,3-0,4
Magnesio	7-11	3-5	4-7
Microelementos (mg/kg MS)			
Hierro	171-460	101-478	160-522
Zinc	29-46	24-33	30-45
Cobre	14-24	4-12	7-23
Manganesio	47-232	28-49	37-106

Fuente: Leterme et al; 2005

Algunas características de los follajes en la alimentación de monogástricos incluye: a) Moderado nivel de proteína; b) Alto nivel de lisina, pero bajas en aminoácidos azufrados; c) Alto nivel de calcio, de minerales menores/vitaminas; e) Altos niveles de Beta carotenos y Xantofilas (beneficiosa para la pigmentación); f) Presencia de factores de crecimiento no identificados (Lascano, 2004).

2.3.1. Propiedades bioquímicas de las proteínas del follaje

Las proteínas son el principal compuesto nitrogenado de las plantas, el contenido es elevado cuando son jóvenes y desciende a medida que maduran. Otros compuestos orgánicos presentes en el forraje son los ácidos nucleicos, pero estos están menor cuantía que las proteínas.

El perfil de aminoácidos (AA) de las proteínas de los forrajes es similar al de la soya (Tabla 4). Sin embargo, un alto porcentaje de la proteína de los forrajes está ligada a su fibra, lo que limita su digestión y absorción (Ly, 1996).

Tabla 4 Composición de aminoácidos en hojas de especies forrajeras

Aminoácidos mg/g Proteína <i>Esenciales</i>	Especies						
	Nacadero ¹	Grano Soya ⁴	Alfalfa ²	G. sepium ³	Leucaena ³	Morera ¹	Bore ¹
Arginina	49	76		64	47	53	50
Fenilalanina	46	51	46	62	47	52	47
Histidina	22	27	19	20	20	21	19
Isoleucina	41	47	46	48	90	43	37
Leucina	72	76	73	96	75	82	75
Lisina	43	64	46	45	50	57	56
Metionina	15	16	16	17	16	16	18
Treonina	43	41	41	48	37	46	42
Triptofano	10	13				11	13
Valina	50	49	50	64	54	54	48
Metionina-Cistina				33	30		
<i>No esenciales</i>							
Alanina	49	41	-			58	57
Aspártico	89	114	-			102	96
Cisteína	14	16	-	16	14	13	13
Glutámico	97	181	-			104	103
Glicina	50	44	-			51	49
Prolina	44	54	-			46	42
Serina	40	53	-			44	42
Tirosina	33	36	-	45	42	34	29

¹ Leterme, 2005; ² Macias y Martínez 1997 citado por Savon *et al.*, 2006; ³ Chadhokar 1982 citado por Tamayo, 1996; ⁴ Grano de soya Inra 2004

A pesar de que las proteínas de las hojas fueron evidenciadas desde hace más de 200 años, su estudio como fuentes alimenticias para animales ha sido relegado por las proteínas de cereales (Douillard, 1985). El interés de la proteína proveniente de las hojas se debe a la abundancia natural que se traduce en términos agronómicos por una producción por Hectárea de 4 a 6 veces mayor que la que se obtiene de la proteína de los granos (Douillard, 1985). El mismo autor afirma que las proteínas de las hojas de leguminosas tienen ciertas particularidades entre ellas:

El contenido de las proteínas de las hojas varía dependiendo de la edad fisiológica y el origen botánico.

Están asociadas a grandes cantidades de fibra y agua por lo tanto son de gran consumo para los herbívoros.

Algunas proteínas están en un complejo lignina-celulosa

Las células foliares tienen principalmente vacuolas y cloroplastos y las proteínas principalmente se encuentran en las mitocondrias.

Las proteínas solubles y ubicadas en las lamíneas de cloroplastos son muy ricas en rubisco

Existen similitudes en las secuencias de aminoácidos del rubisco, sin embargo existen algunas diferencias entre la composición de las especies.

Las membranas de los cloroplastos están compuestas por proteínas, lípidos principalmente glicerolípidos y pigmentos. Las proteínas están asociadas con los lípidos y con la mayoría de los pigmentos en particular la clorofila

Las proteínas foliares representan la parte más importante del nitrógeno reducido que se encuentra en la lámina foliar. La mayor parte del nitrógeno reducido sirve para la formación de rubisco (Ribulosa 1,5 Bis Fosfato Carboxilasa/Oxigenasa). El rubisco es la proteína que constituye más de la mitad de la proteína del estroma del cloroplasto, es reconocida como la más abundante en la biosfera.

Existen algunas proteínas involucradas en procesos de reserva que pueden ser globulinas foliares, proteínas son llamadas proteínas Vegetativas de almacenamiento foliares (VSP) que se encuentran en hojas, tienen un tamaño de Peso molecular entre 27-47Kda y en peso seco tienen un porcentaje del 6-15%, estas proteínas son ricas en aminoácidos esenciales, como valina, lisina, prolina, metionina, triptofano, etc. (Mason y Mullet, 1990)

2.3.1.1 Clasificación y composición de las proteínas

Las proteínas vegetales pueden fraccionarse de acuerdo a su solubilidad, en albúminas (ALB), solubles en agua; globulinas (GLB), solubles en soluciones salinas; glutelinas (GLT), solubles en soluciones tanto ácidas como básicas; y por último las prolaminas (PRL), solubles en soluciones alcohólicas (Gallegos et al., 2004 citado por Aguirre, 2009).

Las albúminas y globulinas son de bajo peso molecular mientras que las prolaminas y glutelinas son de mayor peso molecular y poseen más enlaces bisulfuro. Esto las hace más resistentes a la degradación en el rumen (Sniffen, 1974; citado por Correa, 2001) aunque, por la composición de sus aminoácidos, su valor biológico es menor que el de las globulinas y albúminas

(National Research Council, 1985 citado por Correa, 2001): las prolaminas son ricas en aminoácidos no polares y neutros mientras que las albúminas y globulinas poseen una mayor cantidad de aminoácidos básicos y ácidos (Wilson et al, 1981; citados Correa, 2001).

En granos, la fracción proteica más digestible es la globulina y esta constituida por dos subunidades: a) fracción 11S, la cual tiene un peso de 350-400kd, compuesta por dos subunidades acomodadas en dos hexágonos opuestos. b) la vicilina o la fracción 7S, la cual es una mezcla de proteínas constituidas por tres subunidades glicosiladas en varias proporciones (α , α' y β). (Thompson et al., 1992).

La fracción de las albuminas presenta baja digestibilidad y está asociado a su estructura compacta y ubicación intracelular, haciéndola inaccesible a las proteólisis, sin embargo juega un papel esencial en las semillas.

El estudio acerca de las fracciones proteicas en las hojas de las leguminosas es muy escaso. Savon (2006) encontró que la proteína del follaje de *T. gigantea* está compuesto de albúmina, prolaminas, globulinas y gluteínas en diferentes proporciones (Tabla 5), además destaca que de la fracción de albúmina (soluble en agua) hay una gran parte que está representada por N no proteico (péptidos, nitratos, amoníaco y otros). En *Leucaena leucocephala* se identifica el fraccionamiento de la proteína (Tabla 5) y destacan que la fracción de prolamina que está en mayor proporción al parecer está asociado con polifenoles.

El contenido de la proteínas de leguminosas, varía de acuerdo a la parte de la planta, por ejemplo para *Mucuna pruriens*, el contenido de albuminas en las diferentes partes varia de 15 -45%, el porcentaje más elevado de albumina se encuentra en las semillas, y el mas bajo, en hojas. Las globulinas varía de 7 – 27% y nuevamente el valor mayor está en las semillas; las hojas y tallos tuvieron mayor contenido de prolaminas y las semillas fueron las más bajas. En cuanto a la glutelinas no se encontró diferencia apreciable entre las partes de la planta. Kadkade et al., 1972 (Tabla 5).

Tabla 5 Fracción proteica de *Trichanthera gigantea*, *Leucaena leucocephala* y *Mucuna pruriens*

Fracción proteica %	T gigantea Follaje	L. Leucocephala Follaje	M, pruriens			
			Hojas	Tallo	Pericarpio del fruto	Semillas
Albúmina	28,5	23	15	8	24	48
Globulina	20	53,4	10	7	17	27
Prolamina	21,6	26	10	15	9	3
Glutelina	16,1	19,5	4	2	4	4
Fuente:	Savon, 2006	Ruiz et al., 2008	Kadkade et al., 1972			

Por otro lado, se considera que de la proteína cruda de la harina de follaje de especies no leguminosas como *T. gigantea* y *M. alba* el 83-87% corresponde a proteína verdadera, mientras que este porcentaje incrementa en especies leguminosas como *Canavalia*, *Lablab* y *Stizolobium* a 92-99%. (Savon, 2004)

La mayor parte de la proteína de la soya es clasificada como globulinas y las dos proteínas de almacenamiento principal son la glicina (11S) y b-conglicina (7S), representan del 70-90% de las proteínas de reserva en base al peso seco. La glicina está constituida por seis subunidades no idénticas y cada subunidad posee una cadena ácida de pesos moleculares (PM) entre 37-42kd y subunidades básicas de PM 17-20kd ligadas a un único puente disulfuro. La conglicina está compuesta por tres subunidades, con PM de 76, 66 y 47 kd (Salinas *et al.*, 2002).

El rubisco es una proteína cloroplastica, formada por ocho pequeñas subunidades (sintetizadas en el citoplasma) y ocho grandes subunidades (sintetizadas en los cloroplastos). Esta proteína foliar fija el CO₂ o el O₂ sobre la RuBP (Ribulosa 1`5 Bis Fosfato) para dar respectivamente dos moléculas de 3 fosfoglicerato o una molécula de 3 fosfoglicerato , compuesto esencial para la formación de glúcidos.

Se considera también una enzima fotorreguladora que necesita del magnesio para cumplir su papel (Johal *et al.*, 1980), se degrada rápidamente y, en la oscuridad, su tasa de renovación es pequeña, las altas densidades poblacionales, con su consiguiente sombreado, aceleran la degradación de esta proteína foliar en las hojas más viejas (Merrien *et al.*, 1983)

El rubisco es una proteína globular de plantas superiores que tiene un peso molecular cerca de 550kDa y una estructura general de L8S8 y ocho subunidades grandes con pesos moleculares de 55kda y 8 subunidades pequeñas de peso 12,5kDa. (Barbeau y kinsella, 1988; Douillard y de Mathan, 1994 citado por Lamsal, 2007). Es una de las proteínas más puras, también llamada proteína fracción I, representa del 30 al 70% de las proteínas solubles de las hojas (douillard y De mathan, 1994 citado por Lamsal, 2007).

2.3.2 Aspectos químicos y funcionales de la fibra

La utilización de forrajes en la alimentación de especies monogástricas puede ser una solución adecuada para sistemas de producción porcina desde el punto de vista económico. Sin embargo, el alto contenido de fibra, puede afectar negativamente la digestibilidad y por consiguiente, la utilización y aprovechamiento de nutrientes de estos materiales en el animal.

Se considera que las paredes celulares de las plantas son las fuentes principales de consumo de fibra dietética en la mayoría de alimentos. Desde el

punto de vista nutricional la fibra se determina como una fracción heterogénea cuyos componentes son resistentes a la actividad enzimática del tracto gastrointestinal (Tropel 1976). De acuerdo a la fisiología de la planta, la fibra comprende polisacáridos y lignina que hace parte de la pared celular compuesta por varios polímeros, estos se dividen en cinco componentes mayoritarios: a. Celulosa, b. Hemicelulosa y c. Pectinas (Polisacáridos estructurales), d. gomas (polisacárido de reserva) y e. Lignina compuesto fenólico

También se hallan presentes alginatos, xiloglucanos, dextrana, inulina, glucanos y polisacáridos no sintéticos, así como pequeñas cantidades de proteína, polifenoles de alto peso molecular, cutinas, ácido fítico y almidón resistente (Penago 1993 y Pólit 1996). La estructura química y la organización de los polímeros en la pared difiere ampliamente de acuerdo con el origen botánico de la planta (Leguminosa o gramínea) Básicamente, la pared celular de la planta está compuesta de microfibrillas de celulosa estas microfibrillas están embebidas en una matriz compuesta de un enrejado de lignina (unidades de fenilpropano) que cementan otra matriz de polisacáridos (más alguna glicoproteína), tal como hemicelulosas (arabinoxilano, xiloglucano y pectinas). Estos polímeros tienen diferentes proporciones de acuerdo a la estructura de la pared celular. Entre los numerosos tipos de polímeros de la pared celular, y que compone la fibra dietética, hay que destacar 4 clases de polímeros insolubles en agua y una clase de varios polisacáridos solubles en agua representada en la figura 1. (Savon, 2007).

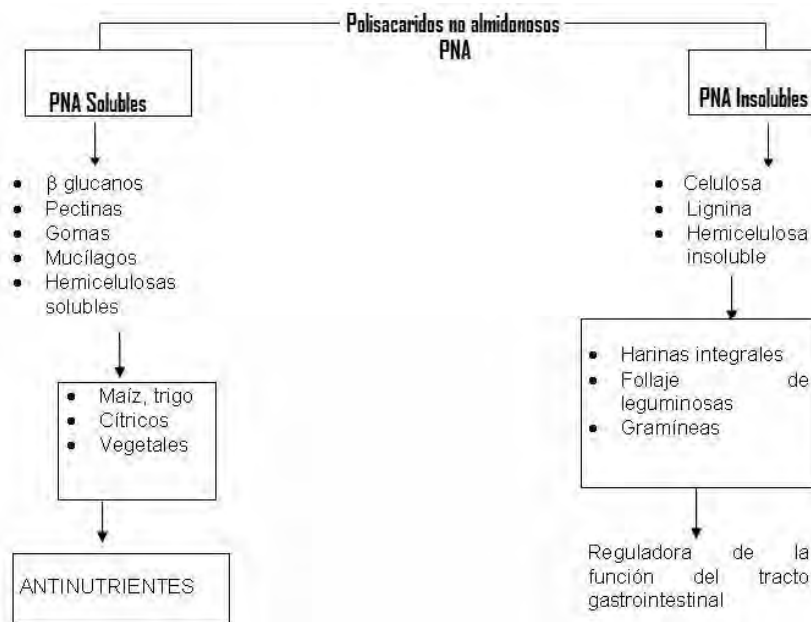


Figura 1 Clasificación Polisacáridos no almidonosos (PNA), fuentes de procedencia y principales efectos fisiológicos

PNA Solubles: Polisacáridos no almidonosos solubles en agua. **PNA insolubles:** Polisacáridos no almidonosos insolubles en agua.

Fuente: Potty, 1996, Modificado por Autor.

La fibra dietética está definida como la suma de lignina y polisacáridos que no son hidrolizados por enzimas endógenas del sistema digestivo de los mamíferos (polisacáridos no almidonados y lignina) (Wenk, 2001).

Celulosa: Polisacárido homoglicano (una unidad glicosa) con enlaces β , es el mayor componente estructural de las paredes celulares de la planta. Tiene una estabilidad interna y las microfibrillas están sujetas firmemente una a la otra por medio de uniones de hidrogeno. Esta configuración hace que la celulosa sea insoluble y resistente a la degradación enzimática, puede ser hidrolizada a glucosa por ácidos fuertes, puede o no estar combinada con lignina. Las enzimas de los mamíferos no pueden desdoblarla pero si lo puede hacer hongos o bacterias. (Maynard, 1981). Cuantitativamente Representa del 40-50% de las cáscaras de las leguminosas y semillas oleaginosas; 10 al 30% de los forrajes; 3 al 5 % de las semillas de leguminosas. (Savon, 2007).

Hemicelulosa: Polisacárido heteroglicano (2-6 diferentes tipos de glicosa) mezcla de glucosa, xilosa, manosa, arabinosa y galactosa. Tiene enlaces tipo β , principal componente de la pared celular de las plantas. La molécula hemicelulósica predominante es el xiloglucano, formado de una cadena de unidades de D-glucosa con enlaces β 1-4 con ramificaciones terminales de unidades de xilosa con enlaces del tipo α 1-6. Esta molécula está unida en forma covalente a la fracción péctica de la pared celular y por uniones de hidrógeno a las microfibrillas de la celulosa, lo que aumenta significativamente la resistencia de las células vegetales. La hemicelulosa es menos resistente a la degradación química que la celulosa y se define como un carbohidrato soluble en álcalis diluido. También puede ser hidrolizada por tratamientos de relativa baja acidez. Es la fracción de la pared celular más asociada a la lignina. (Maynard, 1981). Cuantitativamente, las hemicelulosas constituyen entre 10 y 25% de la materia seca (MS) de los forrajes y subproductos agroindustriales (afrecho, cáscaras, semillas y pulpas), y alrededor de 2 al 12% de los granos y raíces. (Savon, 2007).

Pectinas: Estructura básica es un polímero de unidades de ácido D-galacturónico, unidas por enlaces tipo α 1,4 espaciadas con unidades de ramnosa en enlaces del tipo 1,2. Aunque las ligaduras son de tipo α , no existe enzimas de mamíferos capaces de hidrolizarlas, y la digestibilidad descansa por completo en la acción microbiana. A pesar de este hecho es de una alta digestibilidad para la mayoría de las especies incluyendo al hombre. (Maynard, 1981) Las pectinas se hallan en relativamente alto nivel en las plantas leguminosas y en la pared de los frutos. Una de las principales fuentes de pectinas en la alimentación animal es la pulpa de cítricos y de remolacha. Las plantas leguminosas contienen entre 5 y 10%, como en la alfalfa. (Savon, 2007)

Lignina: Es un compuesto no carbohidrato que da soporte estructural a las paredes celulares de las plantas. Es un polímero amorfo de derivados del fenilpropano de elevado peso molecular. La estructura está formada por ligaduras de carbono a carbono y de éter, resistente al ácido y al álcali. Maynard *et al.*,

1989. La mayoría de los alimentos y los forrajes inmaduros contienen menos del 5% de lignina. Cuando se envejece la pared celular de la planta puede alcanzar hasta 12% en el forraje (Savon, 2007)

Las bacterias atacan la superficie de la molécula, pero el metabolismo enzimático se produce muy lentamente. La mayor parte de pectinas y hemicelulosa se hallan dispuestas entre las fibras de celulosa, y esta disposición dificulta el acceso a ellas por las enzimas. Pero, una vez las enzimas llegan a ellas, su hidrólisis es relativamente fácil (Soler *et al.*, 1998).

Otras propiedades químicas de los componentes de la fibra que afectan a su degradación son la ramificación, metoxilación y gelificación, ya que por una parte impiden el acceso de las enzimas al complejo y, por otra, forman enlaces muy fuertes y resistentes al ataque enzimático (Soler *et al.*, 1998). El acceso de las bacterias a los polisacáridos y las uniones naturales de sacárido parece jugar un papel preponderante en la variabilidad de la fermentación de la fibra. Tamaño y porosidad de la fibra puede afectar su accesibilidad por la bacteria (Guillon *et al.*, 1995).

2.3.2.1 Caracterización de la fracción fibrosa

La fibra dietética comprende:

Estructura primaria: Composición química de los componentes de la pared celular

Estructura secundaria: Aspectos estructurales de los polisacáridos constituyentes.

Estructura terciaria: Arquitectura de la fibra que se refiere a la relación estructura y comportamiento funcional de los componentes de la pared celular y sus efectos fisiológicos. Esta ha sido poco explorada y constituye la principal limitación para conocer el comportamiento de la fibra dietética en los alimentos durante el tránsito digestivo.(PROFibra Comunidad Económica Europea. 1998 citado por Savon, 2004).

Por otra parte, en las especies monogástricas no se clasifica sólo atendiendo a su estructura, sino al grado de solubilidad en agua con lo que se asumen los conceptos de polisacáridos no almidonosos soluble (PNS) y polisacáridos no almidonosos insolubles (PNI). (Figura 1).

La composición química de la pared celular de los alimentos fibrosos pueden variar según la naturaleza y origen de la fibra (Mastrapa *et al.* 1996 y Savón *et al.*, 1998), estos autores, caracterizaron la pared celular de las harinas de follaje tropicales y las compararon con el maíz y la alfalfa, encontraron que la

fibra dietética total de las harinas del follaje de plátano y canavalia duplicaba el valor informado para la alfalfa (Tabla 6). Savon, 2007

Tabla 6 Fraccionamiento de la fibra dietética en harinas de follajes tropicales

Fuente fibrosa	FD total	FDN	FDA	LDN	Cel	Hem
<i>Medicago sativa</i>	398,7	276,1	255,4	77,5	120,9	58,7
<i>Canavalia ensiformis</i>	740,5		461,7	119,2	350,8	174,6
<i>Lablab purpureus</i>	699,5	527,9	410,8	122,0	310,7	161,2
<i>V. unguiculata</i> var Habana 82	488,9	434,6	382,8	99,0	193,2	145,8
<i>V. unguiculata</i> . Var Trópico	578,1	401,3	277,1	63,4	221,2	114,4
<i>Musa paradisiaca</i>	710,8	685,7	406,4	60,5		278,3
<i>Trichanthera gigantea</i>	452,6	353,3	272,6	107,6	156,1	67,6
<i>Zea mays</i>	280,5	273,6	132,0	27,3	132,1	141,6

FD total: Fibra dietética total; **FDN:** Fibra detergente neutra; **FDA:** Fibra detergente ácida; **LDN:** Lignina; **Cel:** Celulosa; **Hem:** Hemicelulosa
Fuente: Savon *et al.*, 1999

En cuanto a la estructura de los componentes de la pared celular de la fibra. (Estructura secundaria), Marrero (1998) comparó la estructura de la FDN de la harina de caña con la del maíz y saccharina (producto obtenido por un procesamiento biotecnológico de la harina de caña) mediante microscopía electrónica y procesamiento digital de imágenes. Se observó que el tipo de fuente y el procesamiento tecnológico (saccharina) influían en la estructura de la fibra. Además, las fuentes no convencionales tuvieron un mayor contenido de esclerénquima, como ha sido descrito en otras harinas y forrajes tropicales, lo cual sugiere un mayor grado de madurez o engrosamiento de la planta, lo que puede hacer menos aprovechable a la harina de caña con respecto al maíz.

En otro experimento, Savón *et al.*, (2000) estudiaron los grupos funcionales de la FDN de harina de follaje de *Vigna unguiculata* y la de la harina de follaje de alfalfa y hallaron similitud en las absorciones debido a la presencia de polisacáridos (celulosa) pero las absorciones del grupo ester fueron más intensas en la alfalfa, en tanto que *V. unguiculata*, var.Habana82 la presentó para el grupo amida. Con respecto a la estructura terciaria que determina la relación estructura función de los componentes de la pared celular y sus efectos fisiológicos (Mc Doughall *et al.* 1996), aunque existen metodologías para estudiar la arquitectura de la fibra: el propuesto por Gidley (1998) que utiliza la espectroscopía de resonancia magnética nuclear y el de Chesson (1998) que emplea la absorción de gas y las técnicas de imágenes hasta el momento no se ha realizado ningún trabajo en fuentes fibrosas no convencionales.

2.3.2.2 Propiedades físico-químicas de la fibra dietética

La calidad de la fibra se modifica por sus propiedades físicas, las que pueden ser independientes de su composición química. Factores como tamaño de partículas, volumen, solubilidad y propiedades de superficie como la capacidad de absorción de agua, capacidad bufferante, capacidad de intercambio catiónico (CIC), viscosidad y fermentabilidad pueden influir en procesos biológicos como el consumo y digestión de nutrientes. (Savon, 2007).

En fuentes fibrosas no convencionales se observa un aumento del volumen de la fibra y capacidad de absorción de agua con respecto al maíz, (Tabla 7) lo que demuestra que estos alimentos tienen menor probabilidad de solubilizarse en agua y su mayor capacidad de absorción de agua puede ser favorable para la fibra, ya que la humedad facilita la hidrólisis de las enzimas celulasas Savón *et al.*, (1999). En aves y cerdos, las características señaladas podrían afectar el tiempo medio de retención de la digesta, a través de un efecto mecánico o laxativo en el tracto gastrointestinal (TGI) con un aumento del peso y volumen de las excretas (Sosulski y Cadden 1982, Eastwood 1992). Además, el aumento del tránsito intestinal provocará una menor absorción de nutrientes y energía (Saura-Calixto 1988).

También se halló una disminución de la Capacidad de Intercambio Cationico (CIC) de las fuentes más voluminosas, lo que se relacionó con la menor composición en fibra dietética soluble con respecto al cereal tradicional y un aumento en el contenido de lignina con menor número de sitios intercambiables libres. Esta característica puede contribuir al incremento del poder tampón de estas fuentes fibrosas en el TGI.

Tabla 7 Propiedades físicas de la fibra dietética de fuentes fibrosas tropicales

Fuentes fibrosas	% Solubilidad	Volumen mLg-1	Capacidad de absorción de agua g.g-1	Capacidad tampón		CIC ¹ meq gFDN
				Meq ácido	Meq básico	
<i>Medicago sativa</i>	27,0	3,1	7,5	0,5	0,4	-
<i>C. ensiformis</i>	8,7	3,8	9,5	0,5	0,4	-
<i>L. purpureus</i>	6,1	4,1	10,3	0,4	0,3	-
<i>V. unguiculata var Habana 82</i>	22,0	2,4	7,8	0,2	0,02	-
<i>L. Leucocephala</i>	16,0	1,9	5,5	-	-	5,5
<i>Cajanus cajan</i>	18,6	4,8	6,1	-	-	-
<i>T gigantea</i>	16,1	3,1	6,9	0,9	0,3	-
<i>Zea mayz</i>	49,5	1,7	1,4	-	-	0,6
Saccharina	23,0	7,0	7,6	0,5	0,33	0,1

¹CIC: Capacidad de intercambio catiónico

Fuente: Savon, 2007

2.3.2.3 Efecto de la fibra en animales monogástricos

A nivel prececal

Entre los efectos fisiológicos más importantes en aves y cerdos, son el efecto en el consumo voluntario, secreciones digestivas y absorción en el tránsito intestinal y metabolismo lipídico. La inclusión de dietas fibrosas en cerdos pueden provocar: (Rodríguez et al., 1999):

Incremento en el consumo del alimento para mantener el consumo de energía digestible. Sin embargo, el conocido efecto de limitación en el consumo con altas concentraciones de fibra se atribuye a lo voluminosas de estas raciones y a la capacidad de retención de agua de las porciones solubles de la fibra. Esto último pudiera alterar los estímulos que regulan el consumo de alimento.

Provoca gran capacidad de retención de agua, la cual dependerá de la composición de la fibra y de sus propiedades físico-químicas

Aumentan la viscosidad del alimento, principalmente por la presencia de fibras solubles.

Produce mayor dificultad en el contacto entre los nutrientes y las secreciones digestivas.

Encapsulamiento de ciertos nutrientes impidiendo su hidrolisis.

Incremento de pérdidas endógenas (ej. secreciones gástricas, biliares y pancreáticas).

Provocan una peor difusión y transporte de lipasas y sales biliares en el lumen intestinal. Dificultan el transporte de los nutrientes hasta la superficie epitelial.

Incremento de la secreción de mucus por parte de la mucosa con el consiguiente incremento de la viscosidad en la capa de agua adyacente a la misma, lo que perjudica la absorción de los nutrientes.

Reducen la velocidad de tránsito, lo que repercute a su vez en una reducción del consumo, y disminuye el contenido en materia seca de las deyecciones lo que puede incrementar la incidencia de camas húmedas.

La menor velocidad de tránsito favorece el desarrollo de la población microbiana intestinal que parece agravar el efecto de la viscosidad al reconjugar los ácidos biliares y/o adherirse a la superficie de la mucosa alterando su funcionamiento normal.

Retrasan la absorción de minerales y vitaminas. La fibra dificulta la absorción de Zn, Fe, Ca, Cu, Mg, Si y vitamina B12. Si la dieta supera la cantidad ideal de fibra, el organismo puede enfermar por déficit de cualquiera de los anteriores elementos.

La inclusión de dietas fibrosas disminuye el valor energético de las dietas, ya que su digestibilidad varía de 40 a 60% en comparación con otros nutrientes (proteínas, grasas, azúcares o almidón) que están por encima del 80% (Noblet y Le Goff, 2001 citado por Bindelle et al., 2007)

Con relación al sitio de digestión de la fibra aunque durante mucho tiempo se ha conocido que el ciego y el colon son los lugares donde tiene lugar la fermentación de la fibra, estudios realizados con cerdos canulados han revelado que existe alguna degradación a nivel cecal especialmente con algunas fuentes fácilmente fermentables como la pulpa de cítricos (Dierick 1989). Savón et al., (1994) encontraron valores más elevados de degradación a nivel ileal de componentes de la pared celular en dietas no convencionales de harina de caña. Estos autores hallaron bacterias y hongos celulolíticos (1011 ufc/ml) en esta región, lo que pudiera explicar estos resultados.

A nivel intestino grueso

Con frecuencia la longitud de los ciegos ha sido relacionada directamente con la capacidad de digestión de la fibra. De la fermentación microbiana de la fibra se obtienen como productos finales los ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Se obtiene en primer lugar acetato y en menor cantidad propionato y butirato, los ácidos isovaléricos, valérico, láctico y gases como H₂, CO₂ y metano. El metano carece de importancia biológica en los monogástricos. La producción de AGCC en el intestino grueso de aves y cerdos está relacionada con el tipo y nivel de fibra en la dieta. La concentración de AGCC en el intestino grueso aumenta linealmente con el incremento de FND. En general, un aumento significativo en los niveles de fibra de la dieta origina un incremento en la razón acetato/propionato. Las dietas que contienen forrajes tienden a rendir una producción mayor del ácido acético, el que puede variar entre 60 y 75 %. Las variaciones pueden deberse al tipo de forraje y a su estado de madurez. En estos casos el ácido propiónico tiende a ser 17-19 % y el butírico 8-12 %. El propiónico y el butírico están inversamente correlacionados con el metano, lo que pudiera favorecer un aumento de la relación propiónico butírico. En ocasiones la inclusión de fuentes fibrosas en sustitución parcial del maíz en las aves es mucho menor que en otras especies y por tanto pudiera favorecer el patrón de fermentación propiónico. También hay que tomar en cuenta que en el ciego de los pollos el *Propionibacterium* fue identificado como uno de los más abundantes (Salanitro et al. 1978). También se ha observado en otras especies monogástricas como el conejo, la conversión del acético a butírico y el predominio de este último por dominancia del *Butirivibrium* Spp (Bellier et al. 1995). Algo similar pudiera ocurrir en las aves. Estos resultados proporcionan beneficio para el ave, ya que el ácido propiónico es de naturaleza glucogénica, lo que hace que se relacione de modo positivo con la producción de carne. Otro aspecto interesante sería el papel del ácido butírico, ya que las células del ciego tienen preferencia por el mismo como fuente energética. Los AGCC producidos en el TGI se metabolizan en la mucosa, éstos son transportados eficientemente y cantidades considerables pueden llegar a sangre para su

metabolización posterior. Se considera que el aporte de los AGCC es de 15-30 % para los requerimientos energéticos del mantenimiento en el cerdo (15% cerdos en crecimiento y 30% cerdas, (Varel y Yen 1992)50 % en el conejo y 17 % en los pollos.

La producción de AGCC en los gansos no es significativa con respecto a la que se produce en los pollos, en los que la tasa de producción mayor es para acetato, mientras que la tasa de absorción mayor corresponde al butírico. En el avestruz el 70 % de la energía de mantenimiento se puede obtener de los AGCC (Smith y Salis 1996). Tales aportes tienen importancia en los animales adultos alimentados con plano nutricional normal, ya que en los animales en crecimiento este aporte es menor. Los datos sobre la utilización por las especies monogástricas de la energía de la porción fibrosa son escasos.

El grado de fermentación que se produce por la presencia de la fibra depende principalmente de la fuente de fibra y de la presencia de nitrógeno, minerales y vitaminas que son esenciales para el crecimiento de la población microbial que reside en el intestino grueso (Varel, 1997).

De todas formas, la eficacia de transformación de AGCC en energía mediante la fermentación de la fibra es menor que la eficacia de aprovechamiento de los carbohidratos solubles como la glucosa en el proceso de digestión enzimática. En los cerdos la primera representa el 75 % de la segunda.

Efectos específicos

En Cerdos en crecimiento las fuentes de fibra con pared celular lignificada son más resistentes a la actividad de los microorganismos y más efectivas en el incremento del volumen de heces y reducción en el tiempo de tránsito (Latymer et al., 1985 citado por Dung, 2002). La capacidad de los cerdos para digerir y utilizar la fibra es afectada por: la fuente de fibra (Ehle et al 1982 citado por Dung, 2002) y el contenido de lignina (Mitaru et al., 1984 citado por Dung 2002). Stanogias and Pearce (1985) citado por Dung (2002) demuestran que el grado de digestibilidad de la fibra depende principalmente del origen de la fibra y de la cantidad de fibra en la dieta. La hemicelulosa a menudo es más digestible que la celulosa en animales monogástricos debido al efecto de la hidrólisis de la hemicelulosa (Unden y Van Soest, 1982).

Las pérdidas endógenas de nitrógeno dependen de muchos factores, la ingestión de alimento, peso corporal, contenido de factores antinutricionales, proteína y la fibra en la dieta. Hay muchos argumentos para explicar el incremento en la excreción de proteína endógena en respuesta al nivel de fibra dietética. La fibra dietética puede estimular directamente la secreción de las enzimas digestivas (Langlois et al., 1987 citado por Botero, 2004).

Al alimentar cerdos con fibra de endosperma y cascara de cebada, se observó un aumento en las pérdidas de nitrógeno endógeno de casi dos veces al

alimentar los cerdos con la fibra del endosperma, comparada con las pérdidas ocasionadas alimentando con cáscara, 331 vs 180mg N x 100g de MS ingerida (Souffrant, 2001).

2.3.3. FACTORES ANTINUTRICIONALES (FAN)

Los factores antinutricionales (FAN) son sustancias sintetizadas por los tejidos vegetales para protegerse de depredadores como bacterias, hongos, insectos y otros animales. Estos compuestos están dentro de las características indeseables de las fuentes fibrosas. Las harinas de follajes de leguminosas (D'Mello 1991 y 1996) y de forrajes con gran producción de biomasa Buitrago (1999), García (1996) presentan una combinación diversa de compuestos antinutricionales.

En general, los FAN originan disminución en el consumo como efecto adverso principal, interfieren en el proceso digestivo con la utilización de los alimentos y los potenciales productivos. (Tabla 8) Las proteínas que se enlazan a los taninos alteran su metabolismo e incluso las interacciones posteriores enzimas-taninos inhiben la actividad de las enzimas digestivas; lo que puede reducir la digestibilidad

Los follajes de leguminosas tienen importancia en la alimentación animal, debido a su alto contenido de proteínas, y otros nutrientes. Sin embargo, contienen FAN que las hacen poco aptas para el consumo. Para determinar la importancia nutricional de estos compuestos es necesario conocer su concentración, precisar el mecanismo de acción y el posible sinergismo o antagonismo con respecto a otros componentes de la dieta; aspectos de importancia para evaluar sus posibilidades como fuentes alternativas de alimento (Scull y Savon, 2003).

Los FAN se agrupan en:

Compuestos fenólicos (taninos, fitoestrógenos y cumarinas)

Toxinas nitrogenadas (alcaloides, glicósidos cianogénicos, glucosinolatos, aminoácidos tóxicos, lectinas e inhibidores de proteasas)

Terpenos (lactosas sequiterpénicas, glicósidos cardiotónicos, saponinas)

Hidrocarburos policetilénicos

Oxalatos

Fitatos

Tabla 8 Efectos mayores de FAN en animales monogástricos de la granja.

Factores antinutricionales	Efecto mayor <i>in vivo</i>
<i>Proteínas</i>	
Inhibidores de proteasas	Reducción de la actividad de proteasas, hipertrofia/hiperplasia pancreática, secreción incrementada de enzimas pancreáticas, nódulos acinares, depresión de crecimiento
Lectinas	Daño de la pared intestinal, respuesta inmune, pérdidas incrementadas de proteína endógena, depresión del crecimiento, muerte
Inhibidores de amilasa	Interferencia en la digestión de almidón
Proteínas antigénicas	Interferencia con la integridad de la pared intestinal, respuesta inmune
<i>Aminoácidos no protéicos</i>	
Neurolaterígenos: β -cianoanalina, ácido β -N-oxalil- α - β -diaminopropiónico, (BOOA o β -((N-oxalilamino)alanina), ácido α , γ -diaminobutírico y β -aminopropionitrilo.	Neurolatirismo. Neurotóxicos
Analabos de arginina y derivados: Canavanina, indospicina, homoarginina, canalina	Reducción del crecimiento a través de la sustitución aberrante de los intermediarios metabólicos. Aumento en el recambio de proteína. Disminución del consumo hepático. Efectos teratogénicos
Aromáticos: mimosina, 3-4-dihidroxifenilalanina y 5 hidroxitriptofano	Desordenes reproductivos, efectos teratogénicos. Daños en órganos
<i>Polifenoles</i>	
Taninos	Formación de complejo proteína-carbohidrato, interferencia con digestibilidad de proteínas y carbohidratos
Glicósidos Cianógenos	Falla respiratoria
Vicina/convicina	Anemia hemolítica, interferencia con la fertilidad e incubabilidad de huevos
Saponinas	Hemólisis, efecto sobre la permeabilidad intestinal
Cicasina	Carcinógeno
Oligosacáridos	Flatulencia
Glucosinolatos	Utilización deteriorada del yodo, hígado y tiroides afectados, crecimiento y palatabilidad reducidos
<i>Alcaloides</i>	
Quinolizidina (alcaloides lupinos), Escopolamina e hiosciamina (alcaloides de Datura)	Disturbios neurales, palatabilidad reducida
<i>Otros FAN</i>	
Fitatos	Forma complejos con minerales y proteínas, deprime la absorción de minerales

Fuente: Belmart y Navar (1999)

2.3.3.1 FAN en follajes tropicales

Las harinas foliares de leguminosas y de cultivos con alta producción de biomasa presentan una combinación diversa de FAN; los taninos y saponinas son los más abundantes. Scull (2004) determinó cualitativamente mediante el tamizaje fitoquímico la presencia de FAN en harinas de follajes de leguminosas tropicales y plantas arbóreas y arbustivas y encontró que el 100% de las plantas contenía polifenoles (taninos), alcaloides y azúcares reductores, y el 75% de ellas hay presencia de saponinas y grupos alfa-amino. Este mismo autor cuantificó el contenido de polifenoles totales, taninos unidos a la fibra y a la proteína de harina de follaje de *Morus alba*, *Canavalia sp*, *Stizolobium aterrimum*, *mucuna sp* y *Trichanthera gigantea*, y observó que la fracción de menor contenido de taninos condensados está unida a la fibra y que las asociaciones que se presentan entre los taninos y la fibra dependen del tamaño de la molécula y de la conformación de los polifenoles, por lo que se requiere conocer los componentes que integran las diferentes fuentes fibrosas.

V. unguiculata No presenta compuesto tóxico en rumiantes, y en animales monogástricos los factores antitripsicos presentes en semilla principalmente pueden ser disminuidos con tratamientos. (Cook *et al.*, 2005). En la harina de forraje Scull (2003) demuestra que tienen bajo contenido total de polifenoles y de taninos condensados, si se comparan con otras especies de leguminosas que consumen comúnmente los animales.(Tabla 9)

Tabla 9 Contenido de polifenoles y taninos (P&T) en follajes

Especie	% P&T MS
<i>T. gigantea</i>	2,69
<i>L. leucocephala</i>	5,76
<i>M. sativa</i>	0,51
<i>S. aterrimum</i>	2,89
<i>Vignas</i>	
Var blanca	0,33
Viñales 144	0,69
Tropico 782	0,53
Cubanita 666	0,37

Fuente: Savon, 2006

Las hojas de *L. purpureus* no contienen taninos, pero los granos si, fitatos e inhibidores de tripsina. (Schaaffhausen, 1963), igualmente la especie *D.velutinum* se reporta como una especie libre de taninos en su follaje (Vivas, 2005). *C. argentea* contiene sólo trazas de taninos 0,2% (Lascano, 1995)

S. guianensis pueden tener cantidades apreciables de oxalatos. Ndyanabo (1974) citado por Lemus (2004) determinó que su contenido en la MS es de 1,72, aunque el nivel de oxalatos solubles en agua fue bajo 0,15%; resulta casi similar al contenido de oxalatos en *Centrosema molle* (Bogdan, 1997 citado por Lemus, 2004). Otras especies son referidas en la tabla 10.

Tabla 10 Contenido de FAN en especies forrajeras tropicales

	¹ <i>T. gigantea</i>	¹ <i>G. sepium</i>	¹ <i>I. spectabilis</i>	² <i>V. unguiculata</i>	² <i>A. lebeck</i>	² <i>C. grandis</i>	² <i>P. llobium</i>
Fenoles	+	+	++	+	n.d	n.d	n.d
Esteroides	++	+	+++	n.d	n.d	n.d	n.d
Alcaloides	-	-	-	n.d	++	+	+++
Saponinas	+	++	++	n.d	++	+	+++
Taninos	n.d	n.d	n.d	n.d	++	++	++
Cumarinas	n.d	n.d	n.d	n.d	-	+++	-
Quinonas	n.d	n.d	n.d	n.d	-	++	-
Calenólidos	n.d	n.d	n.d	n.d	-	++	-

+++ , Contenido abundante; ++, Conenido moderado; +, Contenido bajo; -, Ausencia del metabolito; nd, no determinado

Fuentes: Galindo et al 1989 citado por Sarria 1994¹; Scull y Savon 2003²

2.3.3.1.1 Fenoles y Taninos condensados

Los compuestos fenólicos son algunas de las sustancias tóxicas más abundantes en las leguminosas (Scull y Savon, 2003).

Los taninos condensados son los más perjudiciales desde el punto de vista nutricional, porque reducen el crecimiento y la digestibilidad de la proteína y los aminoácidos (Martínez et al., 2000 citado por Scull y Savon, 2003). Además, provocan alteraciones en la absorción de azúcares y en la inhibición de enzimas digestivas, debido a que forman fácilmente complejos fuertes y selectivos con las proteínas y otras macromoléculas, como los carbohidratos y almidones de la pared celular (Blytt et al., 1998; Stewart et al., 2000 y Villalba et al., 2002 citado por Scull y Savon, 2003).

Las propiedades que tienen los taninos condensados permite que se puedan unirse a la fracción fibrosa y causar una sobreestimación de su contenido, por lo que en algunas especies de leguminosas es difícil distinguirlos de la lignina (Scull y Savon, 2003).

En estudios de nutrición se ha demostrado que cuando los taninos de algunas especies tropicales presentan poca capacidad para precipitar proteínas, resultan inocuos para el sistema digestivo de los animales (Makkar., 1998 citado por Garcia *et al.*, 2008); Al respecto, en algunas investigaciones realizadas con leguminosas tropicales de un mismo género botánico o taxonómicamente cercanas entre sí, se ha demostrado que las especies rastreras, volubles y/o arbustivas presentan una composición discreta de nutrientes y en sentido general menores niveles de metabolitos secundarios tóxicos para el ganado (Makkar et al., 2003; Sotelo et al., 1999; Mueller-Harvey 1992 y Martinez *et al.*, 1996 citado por Garcia *et al.*, 2008). Sin embargo, los follajes de muchas arbóreas aunque son esencialmente proteicos, exhiben mayores concentraciones de compuestos fenólicos (Tabla 10) y menor degradabilidad (Makkar, 1988 citado por Garcia *et al.*, 2008).

El contenido de FAN presentes en las hojas de especies forrajeras difieren dependiendo de la ubicación geográfica, método de obtención de harina. Cano *et al.*, 1994 identificaron el contenido de Taninos Condensados Extractables (TCE) en las hojas de leguminosas y concluyeron que el nivel de TCE fue menor en hojas congeladas y en muestras secadas en horno que en muestras liofilizadas. En muestras liofilizadas se redujo la proporción de taninos ligados a la proteína y a la fibra de la planta y la actividad biológica de los taninos en leguminosas liofilizadas fue mayor que en muestras frescas congeladas y que en las secadas en horno. Por lo anterior indican la liofilización como método de conservación de muestra para identificar contenido de Taninos en leguminosas. Estas conclusiones resultaron de los siguientes datos ilustrado en la Tabla 11.

Tabla 11 Taninos encontrados en follajes de leguminosas con diferente método de secado

Leguminosas (No CIAT)	Tipo de secado	%Taninos*
<i>D. ovalifolium</i> (350)	En horno	4,2
	Liofilización	5,4
<i>Dioclea guianensis</i> (19391)	En horno	26,2
	Liofilización	25
<i>Flemingia macrophylla</i> (17403)	En horno	37,3
	Liofilización	38,8
<i>Phyllodium spp</i> (23958)	En horno	18,7
	Liofilización	19,7
<i>Tadehagi spp</i> (13269-274)	En horno	15,6
	Liofilización	16,4

*Incluye TCE, Taninos ligados a proteína y Taninos ligados a Fibra
Fuente: Cano et al., 1994

Este trabajo concluyo que el 79% de los taninos fueron extractables, el 14% estuvieron ligados con proteína y 7% lo estuvieron con fibra, resultados que difieren con los encontrados por Terrill *et al.*, 1992 65% corresponde TCE, 32% ligados a las proteínas y 3%Ligados a fibra.

2.3.3.1 Polisacaridos no almidonosos

También muchos investigadores han mostrado el papel de los polisacáridos estructurales de la pared celular (polisacáridos no almidonosos, PNA) clasificados como factores antinutricionales y se ha demostrado su presencia (Carré et al. 1990) en diversas plantas fibrosas. Estos son arabinosilanos, β glucanos, celulosa, pectina y α galactósidos. En el estudio de estos FAN y sus efectos se ha establecido que los PNA se unen con grandes cantidades de agua e incrementan la viscosidad de los fluidos. Esta viscosidad dependerá del tamaño de partículas, si es ramificado o lineal, presencia de grupos cargados y su concentración La viscosidad de los fluidos interfiere en el proceso digestivo absorbivo y deprime los resultados productivos. Estos efectos se corresponden con la porción soluble de la fibra, alimentos con elevada concentración de fibra soluble, como la harina de cítricos. (Savon, 2007)

2.4 Digestibilidad de forrajes en monogástricos

La torta de soya ha sido utilizada tradicionalmente para alimentación de animales monogástricos principalmente porque tiene un perfil de aminoácidos complementario al de los granos de cereales. Además, a la baja presencia de algunos factores antinutricionales. La utilización de harinas de follajes, en sustitución parcial o total de las fuentes de proteína para la alimentación de los monogástricos, es una de las estrategias mas investigadas en la actualidad, debido a la ventaja que representa disponer de fuentes autóctonas de alimentos y poder reducir los costos (Savon, 2005).

El análisis bromatológico solo del follaje de una planta no refleja el comportamiento de este en el cuerpo del animal. Para ello, es necesario tener un conocimiento de cada uno de sus componentes y su interacción con el tracto gastrointestinal, como la digestibilidad, composición de la fracción fibrosa, protéica y factores antinutricionales (FAN)

Debido a lo anterior, la siguiente revisión no solo se basa en análisis bromatológicos sino también relacionan con los porcentajes de de digestibilidad de materia seca y materia orgánica y fermentación a lo largo del tracto digestivo en diferentes especies monogástricas.

Dihigo et al. (2004) evaluaron plantas forrajeras predigeridas *in vitro* utilizando inculo de conejo destacando la mayor producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) con *Lippia dulciss*, el nacedero presentó un incremento de acido propiónico con respecto a las demás forrajeras evaluadas (*Lippia eddulis*, *Neonotonia wightii*, *Vigna unguiculata* y *Pennisetum purpueum*). Respecto a la digestibilidad de la materia seca se determina que el nacedero, *Lippia eddulis*, *Neonotonia weightii* y *Penisetum purpureum* tuvieron una alta digestibilidad lo que favorece la utilización cómo forrajera para conejos, y a la vez destacan la menor digestibilidad que tuvo *Vigna unguiculata* por los microorganismos cecales (Tabla 12). La baja digestibilidad de materia seca de *Vigna unguiculata* se lo adjudican en mayor parte a su baja digestibilidad de FDN. Al parecer la *Vigna unguiculata* tiene la proteína muy ligada a su fibra, lo que dificulta el ataque de enzimas, principalmente de proteasas (Dihigo *et al*; 2002 citado por Dihigo, 2004) o la presencia de otras sustancias que interfieren en la digestibilidad de nutrientes, como son los compuestos fenólicos (Delgado *et al*; 1998 citado por Dihigo, 2004). Estos disminuyen en la producción de NH₃ factor que limita el crecimiento de las bacterias y la digestión de la fibra cecal (García *et al*; citado por Dihigo, 2004) afectando así el grado de digestibilidad de esta fuente por los microorganismos presentes en el ciego

Tabla 12 Valores de digestibilidad *in vitro* de la MS, FDN e indicadores de fermentación *in vitro* de cinco plantas forrajeras tropicales en conejos

Indicadores	<i>T. gigantea</i>	<i>L. dulcis</i>	<i>N. weigtii</i>	<i>V. unguiculata</i>	<i>S. sinenae</i>
MS %	51,60	49,04	41,39	36,49	42,89
FDN %	39,91	38,45	32,32	13,49	31,98
AGCCt mmol/L	109,88	145,35	118,15	90,21	91,04
Propiónico %	10,27	6,33	6,33	8,11	8,26
Ph	6,50	5,64	6,47	6,69	6,74

Fuente: Dihigo *et al.*, 2004

Leterme *et al.*, 2005 concluyeron que a pesar del contenido en proteína del follaje de bore, nacedero y morera, (170 a 240 g/kg MS) y aceptable contenido de aminoácidos esenciales, estos no son disponibles para el cerdo, debido a su baja digestibilidad (<36%, Tabla 13). Adicionalmente, el contenido en energía digestible es bajo si se compara con la del maíz (3685Kcal/kg MS).

Tabla 13 Digestibilidad de hojas de árboles forrajeros

	Basal	Nacedero		Morera		Bore	
		Dieta	H sola	Dieta	H sola	Dieta	H sola
MS	85	71,8	47,4	74,7	55,5	75,1	56,9
PC	88	71,4	36,3	69,2	33	69,7	34,4
Energía	87	74,7	50,9	74,1	50,9	75,2	52,8

Fuente, Pascal *et al.*, 2005

Domínguez *et al.*, 2004 evaluaron los procesos digestivos de cerdos, sustituyendo el 30% de la proteína de la dieta con harina de follaje de diferentes variedades de morera e indicaron que la introducción del follaje de morera en las dietas determinó un notorio arrastre de agua en la materia fecal cuando fue evaluado la inclusión de éste forraje en la dieta, además evaluaron la digestibilidad *invitro* de la materia seca, la materia orgánica y el nitrógeno fue significativamente inferior al de la harina de soya, resultados representados en la tabla 14.

Tabla 14 Digestibilidad *in vitro* (pepsina/pancreatina) de harina follaje de morera

Criterio	Harina de soya	Morera tigreada	Morera acorazonada
Digestibilidad <i>in vitro</i> %			
Materia seca	77,7	35,1	36,2
Materia orgánica	75,7	35,3	35,2
Nitrógeno	79,8	37,3	35,9

Fuente: Domínguez *et al.*, 2004

La inclusión de la harina de morera presento un descenso de la digestibilidad fecal y con respecto a la digestibilidad de nitrógeno González *et al.* (2004) citado por Domínguez (2004) hallan que la digestibilidad del Nitrógeno de dietas con harina de follaje de morera, es altamente dependiente de la digestibilidad de fibra detergente neutro de las mismas dietas.

Incluyendo el 30% de de la dieta por Morera especie tigreada y acorazonada se reporto una digestibilidad fecal de 82,5% 65,8% y 67,3% para MS, FDN y N respectivamente. (Dominguez *et al.*, 2004)

Botero (2004) evaluó en cerdas adultas (190-240 kg de PV) la digestibilidad de dietas a base de maíz y, torta de soya, incorporando el 15 y 30% de forraje de nacedero, bore y morera. Los mejores valores de digestibilidad fecal e ileal, fueron cuando el bore fue incluido en las dietas, seguido por la morera (Tabla 15). Los resultados sugieren hasta un 30% de incorporación en las dietas de bore y morera.

Tabla 15 Digestibilidad aparente e ileal en dietas incorporando forrajes en la alimentación en cerdas (190-240 kg).

Parámetro	Control	Nacedero 15%	Bore 15%	Morera 15%	Nacedero 30%	Bore 30%	Morera 30%
<i>% Digestibilidad aparente fecal</i>							
Materia seca	83,7	77,9	81,7	80,3	73	78,7	77,3
Proteína	88,3	77,4	82,9	81,4	71,2	79,9	78,5
Energía	86,1	80,4	83,4	82,9	75,1	79,5	79,2
FDN	57,8	59,3	65,6	62,8	55,6	68	65,2
FDA	37,2	41,4	51,3	47,4	34,3	55,5	53,7
<i>%Digestibilidad aparente ileal</i>							
Materia seca	73,9				58,3	64,2	68,4
Proteína	80,3				53,6	69,6	73,6
Energía	76,0				60,6	66,7	70,7
FDN	44,6				23	49,4	51,4
FDA	25,7				5,7	27,5	37,1

Fuente: Botero, 2004

La digestibilidad del follaje de Leucaena en dieta para cerdos a nivel *in vitro* de MS, MO y N fue de 31,5%; 33,2% y 23,9 respectivamente. Allen y Ly, 2007

Ly y Castro (2006) evaluaron *in vitro* Leucaena en cerdos con una inclusión del 20% en la dieta también con la inclusión de zeolita para identificar el efecto de la última. Se encontró un leve aumento más no significativo con la inclusión de zeolita, y la concentración ileal de AGCC y amoniaco aumentaron significativamente y se lo atribuyen como una captura por parte de la zeolita, de productos finales del metabolismo microbiano en el intestino delgado de los cerdos, el índice amoniaco, constituye una sustancia tóxica que de ser absorbida por el animal, debe ser transformada en urea para su posterior eliminación fundamentalmente por vía renal, lo que a su vez tiene un costo energético indeseable (Tabla 16).

Tabla 16 Digestibilidad ileal *in vivo* de dietas de zeolita y harina de Leucaena en cerdos.

% digestibilidad	Sin zeolita	Con 5% de zeolita
Materia seca	65,7	67,1
Fibra cruda	34	36,3
Materia orgánica	72,2	74,4
Energía	72,5	76,4
Nitrógeno	61,6	65,9

Fuente: Ly, y Castro, 2006

Macias, 1999 presentó una investigación de métodos de evaluación de nitrógeno del follaje de *Guandul Cajanus cajan*, *Leucaena*, *Hibiscus rosa-sinensis* y *Helianthes tuberosus* y evaluaron la digestibilidad invitro con pepsina y pancreatina de los follajes e identificaron una digestibilidad de nitrógeno más bajo con *Helianthus tuberosus* con un valor de $20,3 \pm 0,73\%$ y valor más alto con *Hibiscus rosa-sinensis* con un valor de $66,6 \pm 2,1\%$.

Ly, 1996 investigo acerca de la inclusión de fuentes foliares de proteína en dieta para cerdos e indica (tabla 17) la digestibilidad fecal e ileal en cerdos ileotomizados evaluando en la alimentación el reemplazo de la harina de soya por harina de follaje de *Leucaena* e identifico baja digestibilidad a medida que aumentaba el porcentaje de inclusión del follaje.

Tabla 17 Digestibilidad *in vivo* de dietas con diferentes inclusiones de *Leucaena*

Inclusión <i>Leucaena</i>	0%	10%	20%
<i>Digestibilidad fecal</i>			
Materia Orgánica	92,6	85,9	Nd
Nitrógeno	82,7	78,9	74,5
<i>Digestibilidad ileal</i>			
Materia Orgánica	82,2	77,8	73,8
Nitrógeno	69,4	67,8	69,2

Fuente: Ly et al., (1995 datos no publicados) citado por Ly (1996).

Nieves *et al.*, 2008 determinaron la digestibilidad fecal *in vivo* de nutrientes en dietas con forrajes tropicales (*Leucaena*, *Nacedero*, *Morera*, *Mani forrajero* (*Arachis pintoii*) e *Ipomea batatas*) en conejos y obtuvo una digestibilidad de MS, MO, EB, PC, FDN de 57,6%, 59,9%, 58,9%; 71,0%; 35,4% respectivamente.

Martínez *et al.*, 2008 evaluaron los indicadores morfométricos del tracto digestivo y sus órganos accesorios, con la inclusión de harina de follaje de *Lablab purpurues* en la ración de pollos (Control, Inclusión 5% y 10%), sin presentar diferencias en el peso vivo que oscilaron entre 1,93 – 2,0, solo hubo modificación en el peso de la molleja difirió con el control y la inclusión del 10%.

Kopinski *et al.*, 2008 evaluaron la inclusión de *Stylosanthes* con corte a diferentes edades (temprano y tardío: 12 y 18 semanas después de la siembra, respectivamente y rebrote a las 6 semanas), en dietas para cerdos que contenían 65% sorgo, 25% harina de *Stylosanthes* 10% de caseína y otros (premezcla vitaminas y minerales, lisina y aceite). Los valores de digestibilidad

fueron menores en las dietas con *Stylosanthes* (Tabla 18). Entre estas últimas, se observó una mejor digestibilidad en la dieta con corte temprano, atribuido a un menor contenido de fibra. Una mayor digestibilidad de N fue obtenida con el corte temprano comparándolo con las demás dietas. En países como la China en la zona tropical, se le emplea en corte y luego se muele para suministrarlo como concentrado para aves y cerdos (Chaozu He y Schultze-Kraft 1988, citado por Lemus, 2004).

Tabla 18 Digestibilidad materia seca, energía y nitrógeno y composición nutricional de dietas experimentales con *Stylosanthes guianensis* en cerdos con peso 22kg

	Sorgo	<i>Stylosanthes</i> corte temprano	<i>Stylosanthes</i> corte tarde	<i>Stylosanthes</i> rebrote
<i>%Digestibilidad</i>				
MS	0,87 ^a	0,79c	0,75b	0,73d
Energía	0,88 ^a	0,78b	0,74c	0,72c
Nitrógeno digerido g/d	23,8	25,9	23,6	24,4
Nitrógeno	0,78 ^a	0,73b	0,69bc	0,67c
<i>Composición nutricional en %</i>				
Materia seca	88,5	90,4	90,7	89,9
Ceniza	1,5	7,6	7,7	8,3
Nitrógeno	1,78	3,41	3,11	3,60
Proteína	11,13	21,21	19,44	22,50
Grasa	3,8	2,2	1,7	1,9
Fibra cruda	1,2	12,2	21,3	18
FDN	5,9	25,6	34,5	29,6
FDA	3,5	16,9	26,8	22,1
Almidón	70,5	9,8	3	2,5
Ca	<0,1	1,05	1,18	1,19
P	0.33	0,21	0,4	0,23

Fuente: Kopinski, 2008

Allen y Ly, 2007 2004 evaluaron por incubación de pepsina y pancreatina la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y proteína (DIVPC) de forrajeras tropicales como (*Acacia auriculiformis*, *Desmanthus virgatus*, *Flemingia macrophylla* y *Leucaena leucocephala*) y encontraron la DIVMS dentro de un rango de 21,7-30% el valor mayor correspondiente a *L. leucocephala* y el valor menor para *Acacia auriculiformis* para DIVPC 21-44% se invirtió el comportamiento el valor menor fue para *L. leucocephala* y valor mayor para *A. auriculiformis*, mientras que para las especies no leguminosas (*Artocarpus heterophyllus*, *Borassus flabellifer*, *Cocos nucifera*, *Eucalyptus spp*, *Hibiscus rosasinensis*, *Moringa olifera*, *Morus alba* y *Trichanthehera gigantea*) se obtuvo valores para DIVMS 13,9-75,3% y DIVPC 5,1-74,2%, en las dos variables la especie con menor valor correspondió a *Artocarpus heterophyllus* y el valor mayor para *Moringa oleifera* (Tabla 19)

Tabla 19 Digestibilidad *in vitro* de materia seca (DIVMS) y Proteína (DIVPC) en diferentes especies forrajeras.

Especie	DIVMS	DIVPC
<u>Leguminosas</u>		
<i>Acacia auriculiformis</i>	21,7	44,6
<i>Desmanthus virgatus</i>	27,2	32,4
<i>Flemingia macrohylla</i>	25,9	29,8
<i>Leucaena leucocephala</i>	30	21
<u>No leguminosas</u>		
<i>Artocarpus heterophyllus</i>	13,9	5,1
<i>Borassus flabellifer</i>	17,6	3,7
<i>Cocos nucifera</i>	16	9,2
<i>Eucalyptus spp</i>	33,2	25
<i>Hibiscus rosasinensis</i>	48,7	74,2
<i>Moringa oleifera</i>	75,3	74,4
<i>Morus alba</i>	45	47,9
<i>Trichanthera gigantea</i>	30,4	17,5

Fuente: Ly *et al.*, 2001

2.5 Aspectos influyentes en la digestibilidad de proteínas y carbohidratos

2.5.1 Digestibilidad de proteínas

En monogástricos el perfil de aminoácidos absorbidos está muy relacionado con el perfil de aminoácidos de la dieta al no existir síntesis microbiana antes de la absorción. Los factores que pueden modificar la disponibilidad o digestibilidad son: interacciones negativas entre aminoácidos, competición entre la lisina y la arginina y también entre aminoácidos de cadena ramificada (leucina, isoleucina y valina) para ser absorbidos a nivel intestinal (Rubio y Brenes, 1995).

Por lo general, la mayor proporción de proteína en follajes de plantas forrajeras se encuentra en forma de GLB y ALB y en menor cantidad como GLT y PRL. Así como en los granos de cereales, dependiendo de la proporción de cada una de las fracciones proteicas presentes en las hojas, será la calidad nutricional de su proteína total, así como las características fisicoquímicas y funcionales (Gallegos *et al.*, 2004 citado por Aguirre, 2009).

Los aminoácidos en los alimentos no siempre están disponibles. La degradación de las proteínas, así como su absorción puede ser incompleta. El porcentaje promedio de digestión y absorción en proteínas de origen animal es alrededor de un 90%, siendo el de las proteínas de origen vegetal es sólo un 60 a un 70% aproximadamente (González *et al.*, 2007). La digestibilidad se ve limitada por:

La conformación de la proteína ya que las proteasas atacan a las proteínas insolubles más lentamente que a las proteínas globulares solubles.

La unión a ciertos metales, lípidos, ácidos nucleicos, celulosa u otros polisacáridos, puede ver limitada parcialmente su digestibilidad.

Factores antinutricionales afectan la digestión y la absorción de aminoácidos.

El tamaño y superficie de la partícula donde se encuentran las proteínas

En trabajos desarrollados para rumiantes, identificaron la digestibilidad de las fracciones de la proteína y afirman que respecto a la digestibilidad intestinal es más baja en las prolaminas, que en las globulinas, albúminas y glutelinas. Además la fracción de prolaminas está ligada a niveles de taninos.

A pesar de que las subunidades 7S y 11S de las **globulinas** difieren en la secuencia de aminoácidos, la posición del sitio de división proteolítica de sus subunidades propone similitudes estructurales entre ambas fracciones (Shutov *et al.*, 1996 citado por Torres, 2009). Por lo anterior, se esperaría que fueran desdobladas de igual forma por las enzimas digestivas (Nielsen *et al.*, 1988 citado por Torres, 2009). Sin embargo, a pesar de la similitud en su estructura terciaria y del alto grado de homología detectado a nivel de la estructura primaria entre la 7S y 11S se ha determinado la presencia de regiones variables especialmente en la fracción 11S, la cual contiene un número de residuos de aminoácidos cargados que son localizados en la superficie de la proteína y que las hacen más susceptibles a la hidrólisis enzimática (Wright, 1987 citado por Torres, 2009). Estos residuos pueden ser específicos para la acción de las proteasas, En este sentido la accesibilidad de lisina, arginina (aminoácidos básicos) fenilalanina, triptófano y tirosina (aminoácidos hidrófobos) puede ser un factor importante porque restringe la especificidad para tripsina y quimotripsina (Carbonaro *et al.*, 1997). Mientras que la subunidad ácida de las proteínas 11S y 7S con residuos de aminoácidos (ácido aspártico y glutámico) puede presentar una fracción más soluble (Kinsella *et al.*, 1985 citado por Carbonaro *et al.*, 1997).

La diferencia más llamativa entre los dominios (N-terminal) de la globulina 7S, así como entre los dos dominios de la globulina 11S a nivel del C-terminal se da, porque no permite grandes inserciones hidrofílicas dentro de las regiones ordenadas estructuralmente y conformadas por secuencias específicas de hélices α/β y β haciéndolas inaccesibles al ataque proteolítico. En contraste, los otros dominios de las subunidades de la globulina (C-terminal y N-terminal de la 7S y 11S respectivamente) toleran extensas inserciones hidrofílicas y son susceptibles al ataque proteolítico (Shutov *et al.*, 1996 citado por Torres, 2009)

En cuanto a las albuminas se puede mencionar que son menos digestibles que las globulinas y se considera que son responsables de la pobre biodisponibilidad de la proteína de los granos de leguminosas. Principalmente atribuido a la estructura primaria (alto contenido de cisteína) y a su conformación estructural (Nielsen, 1991; Crevieu *et al.*, 1997 citado por Torres, 2009). Principalmente, a la formación de puentes de azufre intramoleculares (debido al contenido de cisteína), que proporcionan una estructura firme y globular (Genovese & Lajolo, 1996; Márquez & Lajolo, 1996; Crevieu, 1999 citado por Torres, 2009).

2.5.2 Digestibilidad y/o fermentación de carbohidratos no almidonados

Las fibras no son digeridas por las enzimas digestivas de los animales. Por lo tanto, llegan al intestino grueso donde pueden ser fermentadas por la microflora.

La capacidad de los cerdos para digerir y utilizar la fibra está afectada por la fuente de la fibra y el contenido de lignina. La hemicelulosa es frecuentemente más fermentable que la celulosa en animales no rumiantes, debido a los efectos hidrolíticos del ácido gástrico sobre la hemicelulosa (Udén y Van Soest citados por Dung *et al.*, 2002). Además, hay una influencia en la flora bacteriana de los individuos con la edad y sobre todo con la dieta. Fernandez *et al.* (1994); citado por Gómez (2002) encontraron que la capacidad de digerir fibra era 30% superior en animales adultos que en animales en crecimiento, debido a una mayor población bacteriana. Ellos reportan que el número de bacterias celulolíticas era 6,7 veces mayor en animales adultos. Por lo tanto, la función fisiológica de la fibra dietética en el tracto digestivo del cerdo, puede variar considerablemente con la edad o masa corporal.

El principal sustrato energético para la fermentación microbiana son los carbohidratos, con sus productos finales: ácido láctico, ácidos grasos de cadena corta (acético, propiónico y butírico) y varios gases (hidrógeno, dióxido de carbono, metano). El ácido láctico es el principal ácido orgánico presente en el quimo estomacal y en la digesta del intestino delgado, mientras que los ácidos grasos de cadena corta predominan en el intestino grueso (Bach *et al.*, 1991). Los ácidos grasos de cadena corta constituyen una fuente de energía para el hospedero, estos pueden proveer hasta un 30% de los requerimientos de energía de mantenimiento para cerdos en crecimiento y mucho más en cerdos adultos (Christensen *et al.*, 1999). Algunos ácidos grasos de cadena corta son metabolizados en el sitio de absorción (ej. butirato), pero la mayoría de estos ácidos derivados del colon son metabolizados por el hígado.

2.6. Técnicas Digestibilidad *in vitro*

Una de las características principales del sector porcícola es la búsqueda de fuentes de alimentos disponibles y económicas que logren generar mejor rentabilidad a los productores. Lo especial es que la búsqueda ha tenido como misión dejar el uso del propio animal como respuesta final para decidir el uso o no de un nuevo alimento, y usar en cambio las condiciones de estudio *in vitro* con preferencia con respecto a otras *in situ*.

La digestibilidad de los alimentos puede ser estimada por métodos que simulen el proceso de digestión; los métodos *in vitro* para estimaciones a nivel de laboratorio de la degradación de los alimentos son importantes para los nutricionistas. Un eficiente método de laboratorio debe ser aplicable y se debe correlacionar bien con los parámetros de medición *in vivo*. Los métodos *in vitro*

tienen la ventaja no solo de ser menos costosos y demorados, sino que permiten mantener las condiciones experimentales más precisas que en los ensayos realizados *in vivo* (Makkar, 2003).

Este trabajo desarrolla la caracterización nutricional de forrajes y la digestibilidad de este en todo el tracto digestivo, técnicas que simulan digestibilidad prececal de la Materia seca con pepsina y pancreatina, con la metodología Boisen y Fernández (1997); además incluye cinética de hidrólisis de la proteína, con la metodología de Montoya et al (2005), con los residuos obtenidos se simula la fermentación que ocurre en el intestino grueso de los cerdos (Menke y Steingass, 1988; Boudry et al., 2003) y se determina la cinética y producción de gas, la identificación y producción de AGV se realiza mediante la técnica de High Performance Liquid Chromatography "HPLC" con una columna de Aminex HPX-87H (Bio-Rad lab, Hercules) y ácido sulfúrico 0.006 M como fase móvil a un flujo de 0.09 ml por minuto (Hartemin *et al.*, 1997). Adicionalmente a través de electroforesis en SDS-PAGE se identifica un perfil de aminoácidos de estas especies forrajeras.

3. MATERIALES Y METODOS

El trabajo contempló la caracterización nutricional del follaje de leguminosas forrajeras tropicales; se determinó la composición química y mediante pruebas *in vitro* se simuló la digestión a nivel estomacal e intestinal (digestibilidad de la MS, energía y proteína) y la fermentación a nivel del intestino grueso (cinética de producción de gas y de AGV). Finalmente, usando electroforesis SDS-PAGE se identificó el perfil de proteínas.

3.1 LOCALIZACIÓN

La composición química, las pruebas de digestibilidad *in vitro* (MS, MO y cinética de hidrólisis enzimática de la proteína) y la fermentación *in vitro* (técnica de gas) fueron realizados en el laboratorio de Nutrición Animal. Las electroforesis se realizaron en el laboratorio de Biología Molecular, ambos laboratorios de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira; En el laboratorio de Forrajes de el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) se analizó la concentración de AGV. Los dos sitios están ubicados en el departamento del Valle del Cauca a una altura de 1000 msnm, temperatura promedio anual de 24°C, precipitación de 1000 mm/año y una humedad relativa del 74%.

3.2 MATERIALES

3.2.1 Material biológico

Los materiales vegetales usados en este trabajo (excepto el bore) fueron obtenidos del banco de Germoplasma de forrajes de la Estación experimental del CIAT en el municipio de Santander de Quilichao departamento del Cauca con una altitud de 990 msnm, temperatura promedio de 23°C, precipitación promedio de 1800 mm/año y humedad relativa de 74%. Se trabajó con 9 plantas forrajeras tropicales (Tabla 20) y la torta de soya fue utilizada como control. Esta última fue obtenida del mercado comercial de Palmira. Los materiales fueron molidos a 0.5 mm de tamiz.

Tabla 20 Materiales vegetales evaluados en el presente trabajo de tesis

Nombre común	Nombre Científico	Id
Bore	<i>Xanthosoma saggitifolium</i>	Xs
Caupi accesión Verde Brasil	<i>Vigna unguiculata</i>	Vu
Canavalia accesión CIAT 17009	<i>Canavalia brasiliensis</i>	Cb
Lablab accesión CIAT 22759	<i>Lablab purpureus</i>	Lp
Centrosema brasilianum accesión CIAT 5234	<i>Centrosema brasilianum</i>	Cbr
Centrosema molle accesión CIAT 15160	<i>Centrosema molle</i>	Cm
Stylosanthes	<i>Stylosanthes guianensis</i>	Sg
Desmodium velutinum accesión CIAT 33443	<i>Desmodium velutinum</i>	Dv
Cratylia accesión CIAT 18516	<i>Cratylia argentea</i>	Ca
Torta de soya	<i>Glycine max</i>	TS

Id: Identificación abreviada

Las mismas accesiones excepto *el Vigna unguiculata* (Accesión CIAT 9611) fueron utilizadas para la identificación de proteínas a través de electroforesis SDS-PAGE. Sin embargo por falta de material, estas fueron provenientes del municipio de Patía, ubicado en el departamento del Cauca con una altitud de 910 msnm, temperatura promedio de 23°C, precipitación promedio de 2.171 mm/año y humedad relativa del 80%, suministrado por el grupo de investigación Nutrición Agropecuaria de la Universidad del Cauca

3.2.2. Insumos

La tabla 21 indica un listado de los principales materiales y equipos utilizados en los análisis de laboratorio.

Tabla 21 Principales materiales y equipos utilizados en el análisis de laboratorio

Materiales	Equipos
Micropipetas de 1 y 5 ml, 10, 20 y 100 µl	Balanza analítica
Bureta digital 50 ml	Molinos de criba 1-0,5 mm
Erlenmeyer, Beackers	Mufla y hornos 39°C y 60°C
Crisoles No. 2 para filtración	Equipo soxhlet
Probetas 100, 500, 250, 100 ml	Destilador, digestor para proteína
Clips de plástico	Bomba calorimétrica, bomba de vacío tamiz de 250 µm, cilindro de oxígeno
Bolsas para stomacher	Frasco shoot Duran 2000 ml
Recipiente térmico	Baño maría con agitación y placa Julabo Shake Temp SW22
Termómetro	Espectrofotómetro UV-1603 UV Visible Spectrophotometer Shimadzu
Bandejas plásticas	pH-metro
Bolsas de filtro F57	Titulador automático
Espátulas, magnetos	Rotovaporador
Tela de nylon	Centrifugas
Gradillas	Baño maría de acrílico para jeringas
Jeringas	Stomacher
	Ultraturax T25IKA WERKE
Guantes de látex	Cámara de electroforesis BIO-RAD Miniprotein 3
	Ultraturax

Animales: 2 Cerdos con peso promedio 90 kg de los cuales se obtuvo el inoculo para realizar las pruebas de cinética de producción de gas.

Reactivos: KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , HCl 37 %, NaOH en tabletas, Etanol 96 %, Acetona 99.5 %, Pepsina Porcina, Pancreática Porcina, Cloranfenicol (SigmanC-0.78), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Mn Cl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 , NH_4HCO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{C}_{12}\text{H}_6\text{NO}_4\text{Na}$ (résazurine), $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, Agua destilada y solución detergente neutra, solución detergente ácida y Tampon borato pH 8, Solución de acrilamida/*bis*-acrilamida (38:2); Tris-base, SDS, Glicerol, 2-Mercaptoetanol, Glicina (forma ácida), Persulfato amónico, TEMED (preparado comercial), Azul de Coomassie (CBB R-250) y Proteínas estándar de peso molecular conocido (rango de 14,4-116,0 kDa, Fermentas#SM0431).

3.3 METODOLOGÍA

3.3.1 Composición química

A los diferentes materiales estudiados se les realizaron las determinaciones químicas de Weende, energía bruta y Van Soest según el manual del laboratorio de nutrición animal de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira (Leterme y Estrada, 2006). (Tabla 22)

Tabla 22 Análisis de laboratorio en determinación composición química, fibra y energía.

	Método	Referencia
Weende		
Materia seca (MS)	Secado a 105°C hasta alcanzar peso constante	AOAC, 1990
Cenizas	Mineralización 600°C durante 8h	AOAC, 1990
Extracto etéreo	Método Soxhlet	AOAC, 1990
Proteína	Kjeldahl	Kjeldahl, 1983
Van Soest		Van Soest y Wine, 1975
FDN, FDA y LDA1	Equipo ANKOM	
Energía	Bomba calorimétrica	Parr 1341
SDS-PAGE		Laemmli, 1970

¹ FDN: Fibra detergente neutra; FDA: Fibra detergente ácida; LDA: Lignina

También se determinaron algunos de los Factores antinutricionales (FAN) como porcentaje de polifenoles y taninos, referidos en ácido tánico al 12%

3.3.2 Prueba de digestión prececal *in vitro* y cinética de hidrólisis enzimática de las proteínas.

La digestión prececal y la cinética de hidrólisis tienen el objetivo de simular la digestión ocurrida en el estómago y en el intestino delgado de los cerdos utilizando pepsina y pancreatina, para obtener el porcentaje de digestibilidad de los forrajes estudiados.

3.3.2.1 Proteasas

Las enzimas utilizadas para la predigestión prececal de las proteínas de los materiales en estudio fueron, pepsina (ref. 107197, Merck) y pancreatina porcina (ref. P1750, Sigma).

3.3.2.2 Procedimiento predigestión *in vitro* en cerdos

La predigestión *in vitro* se realizó a todas las muestras (follajes de leguminosas) incluido el control forrajero bore y control nutricional torta de soya. Un total de 60 predigestiones se realizaron para los materiales (6 replicas por muestras). La hidrólisis *in vitro* fue realizada bajo continua agitación (250 rpm). Las muestras (150 mg proteína por material obtenida %MS x %PC) fueron previamente mezcladas con una solución de HCl 0.1 N pH 2.0 (9.4 mg proteína/ml HCl) y preincubadas por 30 min a 39°C, con el fin de homogenizar la mezcla. Luego, se agregó pepsina al medio [relación pepsina: proteína de 1:67 (p:p)]. Posteriormente, después de la incubación con pepsina (120 min, Figura 2), se agregó un tampón fosfato salino (0.2 M, pH 8.0) (relación 1:1, v:v) con el medio de incubación. La pancreatina [relación pancreatina: proteína de 1:30 (p:p)] fue agregada rápidamente al nuevo medio e incubada durante 240 min (4 h, Figura 2) (Montoya et al., 2008a; 2008b). Las soluciones utilizadas se presentan en el Anexo A.

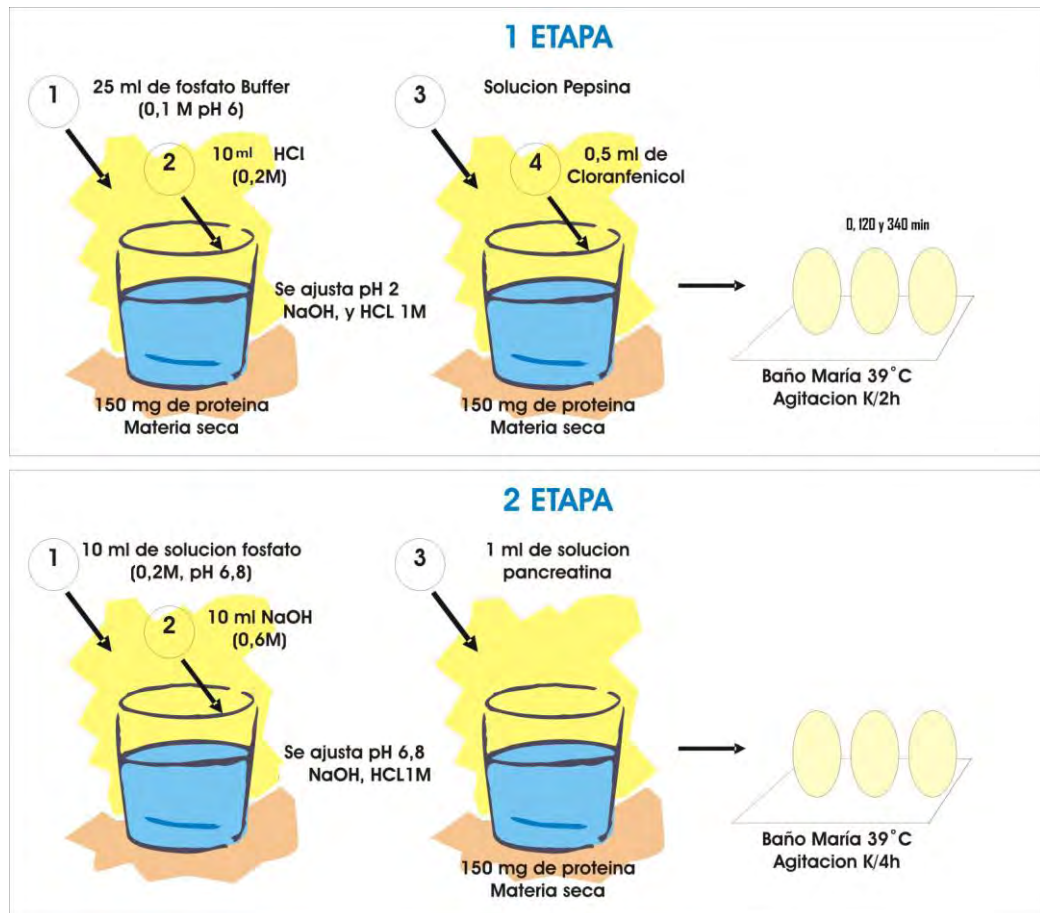


Figura 2 Ilustración proceso protocolo de digestión prececal de proteína y tiempos de toma de muestra de la cinética de proteína.

Al final de la hidrólisis por pepsina-pancreatina se separa el material no digerible filtrando el residuo en crisoles filtrantes porosidad 2 (p_2) y con una tela de nylon $42 \mu\text{m}$ (esta última ayuda a mejorar la filtración). Para terminar de eliminar el material hidrolizado (proteína, grasas, carbohidratos, etc.), al final de la filtración se agregó dos veces 10 ml de etanol (96%) y acetona (99,5%). Posteriormente, los crisoles (con el material insoluble) fueron llevados a la estufa a 60°C hasta que alcanzaron un peso constante, como se ilustra en la Figura 3. Los residuos secos fueron utilizados para la determinación de la digestibilidad de la materia seca, energía y proteína. Este residuo fue almacenado para su posterior utilización en la fermentación cecal in vitro y determinación de proteína cruda y energía bruta.

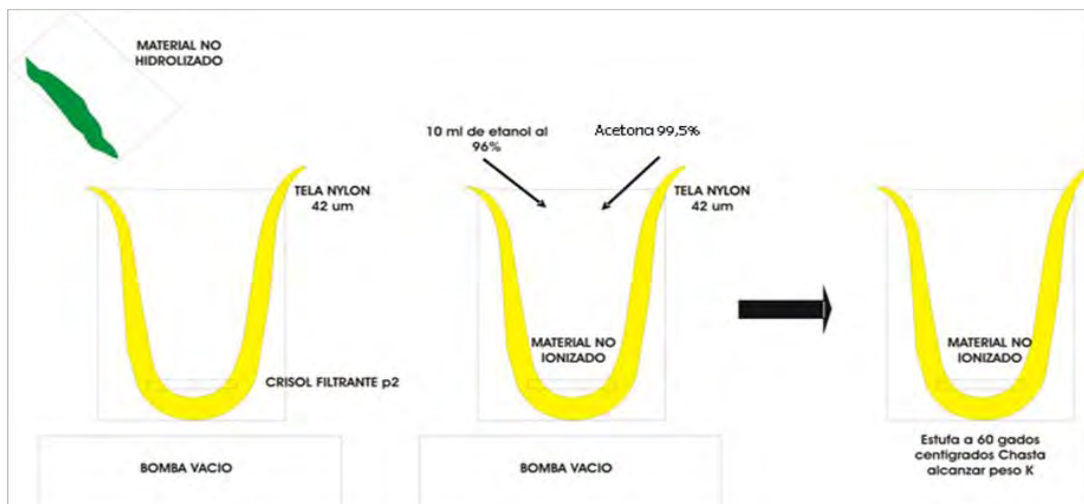


Figura 3 Ilustración proceso de filtrado material no hidrolizado en el proceso de digestión prececal

3.3.2.3 Cinética de hidrólisis enzimática de la proteína

La cinética de hidrólisis enzimática, se realizó sobre los follajes de leguminosas que tuvieron mejor digestión enzimática prececal de materia seca, para un total de 8 tratamientos con 4 repeticiones. El bore se utilizó como control interno y la torta de soya como control positivo. Para su realización, se utilizó un baño maría con 6 placas de agitación (Figura 4).



Figura 4 Baño maría utilizado para la cinética de hidrólisis *in vitro* de las proteínas del follaje de leguminosas tropicales y controles (Bore y torta de soya).

Con el objetivo de comparar con los resultados de la digestión prececal de la proteína, la cantidad de muestra (150 mg de proteína) y la relación con las enzimas fueron las mismas descritas en el procedimiento de digestión prececal de proteína mencionado anteriormente (ver 3.3.2.2). Sin embargo, dos alícuotas (1 ml y 0,75 ml) fueron colectados en los tiempos 0, 30, 120, 140, 240 y 360 min después de la incubación con pepsina (Figura 2). Estas alícuotas fueron destinadas a los análisis del grado de hidrólisis por N y ortho-

phthaldialdehyde (OPA), respectivamente. Cada alícuota del primer grupo de muestras fue tratada con ácido tricloroacético (TCA) 7.5% (p: v concentración final) para interrumpir la hidrólisis y precipitar los péptidos. Después, las muestras fueron centrifugadas (14000 rpm, 10 min) y el sobrenadante fue recuperado para la determinación del N soluble con el método Kjeldahl. Con el segundo grupo de alícuotas, se determinaron los grupos aminos libres (NH₂) usando el método OPA (Church *et al.*, 1983). Cada alícuota se mezcló con la solución OPA y la densidad óptica fue medida en el espectrofotómetro a 340 nm dos minutos después.

3.3.3 Fermentación cecal in vitro (Producción y cinética de gas)

Esta prueba pretende simular la fermentación que ocurre en el intestino grueso de los cerdos (Menke y Steingass, 1988; Boudry *et al.*, 2003). Con los residuos obtenidos de la predigestión de cada material experimental se realizó la prueba de fermentación en jeringas de vidrio, utilizando como inóculo heces frescas de cerdo.

3.3.3.1. Protocolo de fermentación en jeringas

Una muestra de 200 mg de forraje obtenida del residuo de predigestión se colocó en el fondo de una jeringa Kolbendeprober de vidrio de 100 ml (Figura 5). Estas se colocaron en el horno a una temperatura de 39°C hasta el momento previo a la incubación. El día de la fermentación, una solución tampón de Menke fue preparada: 0.3 ml de la solución A [microminerales], 593 ml de la solución B [micro tampón], 593 ml de la solución C [macrominerales], 3 ml de la solución D [Rasazurina]. Finalmente, la solución E se agregó hasta alcanzar un color fucsia en la solución en un baño maría a 39°C (Anexo B). Al mismo tiempo, muestras de heces frescas fueron colectadas (300 g en cerdos adultos) directamente del ano de 2 cerdos alimentados previamente por 10 días con una mezcla de 30% follaje de leguminosa seco y molido y 70% concentrado comercial.



Figura 5 Partes de jeringas utilizadas en la prueba de fermentación in vitro

La muestra fecal se diluyó con 100 ml de la solución tampón de Menke y se llevaron al stomacher Lab Blender 400 (Seward Medical Norfolk, UK) por 1 min,

para extraer las bacterias adheridas a las partículas del alimento sin digerir (Makkar, 2001). La solución se filtro (tamiz de 250 μm) y se añadió la solución tampón de Menke hasta alcanzar una concentración 1:10 (p:v) (Boudry et al., 2004). Todo este proceso se realizo bajo flujo continuo de CO_2 y en el baño maría a 39°C. Finalmente, 30 ml del inóculo fecal fueron añadidos a las jeringas e incubados a 39°C (Figura 6). Lecturas del volumen de gas producido en las jeringas (desplazamiento del embolo) fueron realizados a las 0, 2, 5, 8, 12, 16, 20, 24, 30, 48, 72 y 99 h de incubación. Cuando la producción de gas alcanzo los 50 ml, este fue evacuado (el pistón fue colocado en su posición inicial) (Boudry et al., 2003). Cuatro jeringas con solo inóculo fecal fueron usadas como blancos y un control interno, harina de remolacha. Por muestra se usaron 8 jeringas, de las cuales 4 fueron incubadas por 30 h y las restantes por 99 h. Este ajuste de tiempo fue determinado de acuerdo al tiempo de retención de la digesta en el intestino grueso de cerdos en crecimiento y cerdos adultos (Jensen y Jørgensen, 1994). El contenido de cada jeringa fue trasferido y centrifugado a 3000 rpm por 10 min. El sobrenadante fue destinado para la cuantificación de los ácidos grasos volátiles (acético, propionico, isobutirico y butírico).



Figura 6 Baño maría a 39°C utilizado para las fermentaciones cecales in vitro en jeringas

3.3.4 Determinación de los ácidos grasos volátiles

Una alícuota de 800 μl del sobrenadante obtenido después de la fermentación fue mezclada con 200 μl de la solución desproteinizadora (25g HPO_3) (ácido meta fosfórico), en un tubo eppendorf de 1.5 ml para la determinación de AGV. Posteriormente, las muestras fueron llevadas al laboratorio de calidad de Forrajes de CIAT. Para la determinación de los AGV se uso la técnica de High Performance Liquid Chromatography "HPLC" en un equipo She madzu SCL-10A, con una columna de Aminex HPX-87H (Bio-Rad lab, Hercules) y ácido sulfúrico 0.006 M como fase móvil a un flujo de 0.9 ml por minuto a una temperatura de 60°C (Hartemin et al., 1997).

3.3.5. ELECTROPHORESIS SDS-PAGE

Las electroforesis fueron realizadas en geles de concentración de 4% y gel de separación de 13%. Un marcador de peso molecular (PM) estándar (14,4 - 116,0 kDa, Fermentas #SM0431) fue utilizado para determinar el PM de las bandas de interés. Las soluciones utilizadas para este proceso se describen en el anexo C. Para lograr identificar en los geles (SDS-PAGE) las proteínas en las hojas de las leguminosas, se realizó un procedimiento inicial para la extracción de proteínas. Se peso cerca de 0.3 g de harina del follaje, se adicionó 4 ml de tampón borato, se mezcló con el vortex y se homogenizó (ultraturrax) para romper la pared celular. Esto último fue realizado con hielo para evitar la desnaturalización de las proteínas por el calor producido durante la homogenización. Posteriormente, las proteínas fueron extraídas en agitación constante durante 1 hora, y centrifugadas a 6000 rpm por 25min a 10°C. El sobrenadante fue recuperado para determinar el N y para las electroforesis.

Las muestras (sobrenadante) fueron mezcladas (1:1, v:v) con tampón Laemmli. Posteriormente, estas fueron calentadas a 100°C por 5min. Se mezcló las soluciones descritas en el Anexo 3 para el gel de migración 13%, y se dejó polimerizar durante 40min. Posteriormente, se agregó encima la solución de gel de concentración 4% (Anexo 3) y se dejó polimerizar por 30 min. Finalmente, las muestras fueron depositadas de acuerdo a su concentración de proteína y corridas con el tampón de migración a 70V por 150 min. Una vez culminado el tiempo de corrida (entre 2 a 3 h) se sacaron los geles de la cubeta de electroforesis, y se procedió hacer la fijación de proteína sumergiendo los geles en una solución de TCA 12% durante 20 min con agitación suave y constante. Luego, los geles se tiñeron con una solución de azul de Coomassie (20 min con agitación constante), seguidos por la solución desteñidora (hasta alcanzar el color deseado). Las lecturas se hacen de acuerdo a las bandas que se formen en cada carril y el peso es identificado por el marcador depositado en el carril derecho de cada gel.

3.4 CALCULOS ESPECÍFICOS

3.4.1. Prueba prececal in vitro

Digestibilidad de la MS (simulación de la digestión hasta el final del intestino delgado):

$$\text{Digestibilidad}_{\text{MS}} = \left[\frac{\text{g MS inicial} - \text{g MS final}}{\text{g MS inicial}} \right] \times 100$$

Donde g MS inicial: peso inicial de la muestra en MS (cantidad de follaje antes de la digestión prececal), g MS final, peso final de la muestra en MS (cantidad del follaje después de la digestión prececal). Esta misma fórmula se utilizó para determinar la digestibilidad de la energía con sus respectivos datos.

3.4.2 Cinética de hidrólisis in vitro del N

Para la determinación del grado de hidrólisis (GH) del N fue usada la siguiente ecuación:

$$\text{Grado Hidrólisis-N} = ([N_{s(TX)}] - [N_{s(T0)}]) \times 100 / ([N_{(Total)}] - [N_{s(T0)}])$$

Donde: $N_{s(TX)}$: N soluble en TCA al tiempo X de la cinética, $N_{s(T0)}$: N soluble al tiempo 0; $N_{(Total)}$: N total de cada muestra. El GH_{NH_2} por el método OPA utilizó la misma ecuación, solo que el N fue reemplazado por grupos NH_2 .

3.4.3. Prueba de fermentación cecal in vitro

3.4.3.1. Volumen de gas acumulado

El volumen de gas acumulado producido en un tiempo t (V_c ; ml de gas/g MS) durante la fermentación en jeringas fue calculado como se describe a continuación:

$$V_c = \left[\{V_t - V_o\} - \left\{ V_o \sum \left(\frac{V_{bt}}{V_{bo}} \right) \right\} \right] \times \left[\frac{1000MS}{M} \right]$$

Donde V_t , volumen en tiempo t en la jeringa (ml/g MS); V_o , volumen inicial de la jeringa (ml); V_{bt} , volumen de gas acumulado producido por el blanco en tiempo t (ml/g MS); V_{bo} , volumen inicial del blanco (ml). Este cálculo permite expresar el volumen de gas producido en función de la cantidad de materia seca exacta puesta a incubar, y de tomar en cuenta la cantidad precisa de inóculo colocado en la jeringa para la incubación.

La cinética de producción de gas fue analizada y ajustada con el modelo propuesto por France et al. (1993):

$$y = A \{1 - \exp[-b(t - T) - c(\sqrt{t} - \sqrt{T})]\},$$

Donde y, representa la producción de gas acumulada (ml); t, el tiempo de incubación (horas); A, es la asíntota (gas total; ml); T, es el periodo de latencia (horas); b y c, son constantes (h^{-1} y $h^{-1/2}$). El porcentaje de la fracción degradada (μ , h^{-1}) varía con el tiempo de acuerdo a: $\mu = \frac{b + c}{2\sqrt{t}}$, $t \geq T$

$$2\sqrt{t}$$

3.5 ANALISIS ESTADÍSTICO

Todos los análisis estadísticos fueron realizados usando el *General Linear Model* (GLM) del programa SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA; SAS, 1999). El

diseño estadístico aplicado para, digestibilidad *in vitro* de la MS, energía, cinética de digestibilidad de la proteína fue completamente al azar con 10 tratamientos y 6 repeticiones cada uno; y para los parámetros de producción de gas y producción de ácidos grasos volátiles fue a través de bloques completos al azar con 10 tratamientos y 4 repeticiones cada uno, cuando el efecto del ANOVA fue significativo ($P < 0.05$), los valores medios de cada variable fueron comparados usando el test de Duncan. (Steel y Torrie, 1980)

Tratamiento	Nombre Científico	Id
0		
1	<i>Xanthosoma saggitifolium</i>	Xs
2	<i>Vigna unguiculata</i>	Vu
3	<i>Canavalia brasiliensis</i>	Cb
4	<i>Lablab purpureus</i>	Lp
5	<i>Centrosema brasilianum</i>	Cbr
6	<i>Centrosema molle</i>	Cm
7	<i>Stylosanthes guianensis</i>	Sg
8	<i>Desmodium velutinum</i>	Dv
9	<i>Cratylia argentea</i>	Ca
10	Torta de soya <i>Glicine max</i>	TS

Modelo utilizado:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Respuesta de la j-ésima repetición sometida al i-ésimo tratamiento.

μ = Media general.

T_i = Efecto del i-ésimo tratamiento.

E_{ij} = Error experimental de la j réplica sometida a la i-ésimo tratamiento.

Para el análisis global de las variables se realizó una matriz de correlación Pearson, se utilizó análisis de Componentes Principales, posteriormente se hizo un análisis de clusters, arrojando grupos con características relativamente homogéneos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Composición nutricional

La composición química de los follajes de forrajeras tropicales y la torta de soya se presenta en la Tabla 23. Los valores de proteína de los follajes oscilaron entre 144-240 g/kg MS. Las leguminosas forrajeras *C. brasiliensis*, *L. purpureus*, *C. molle*, *C. argentea*, *D. velutinum* y *X. saggitifolium* presentaron valores de proteína superiores a 200 g/kg MS, solamente superados por la torta de soya (450 g/kg MS).

Tabla 23 Composición química del follaje de leguminosas forrajeras tropicales y la torta de soya.

Análisis	Composición (g/kg MS)	Forrajes ^a									TS
		Vu	Lp	Cm	Cbra	Sg	Ca	Cb	Dv	Xs	
Weende	Materia Seca	897	891	904	906	906	905	899	909	936	925
	Proteína cruda	185	228	205	167	144	233	236	241	216	450
	Cenizas	125	117	112	104	87	116	144	102	144	60
Van Soest	FDN ^b	316	311	365	470	578	506	343	473	347	170
	FDA ^c	167	183	185	304	353	260	155	248	249	80
	LDA ^d	22	44	55	97	56	65	30	37	122	10
	Hemicelulosa	149	129	180	130	225	246	188	225	98	90
	Celulosa	145	138	130	243	297	195	125	211	127	70
	NDS*	559	572	523	426	335	378	513	425	509	770
	Energía (MJ/kg MS)	16,1	16,7	17,3	17,0	17,3	18,6	14,9	17,5	17,7	19,9
Fenoles ^f (%)	4,9	n.d.	5,5	n.d.	n.d.	4,5	4,9	4,4	n.d.	n.d.	

^aCb, *Canavalia brasiliensis*; Vu, *Vigna unguiculata*; Lp, *Lablab purpureus*; Cm, *Centrosema molle*; Cbra, *Centrosema brasilianum*; Sg, *Stylosanthes gianensis*; Ca, *Cratylia argentea*; Dv, *Desmodium velutinum*; Xs, *Xanthosoma saggitifolium*; TS, Torta de soya.

^bFDN Fibra Detergente Neutra

^cFDA Fibra Detergente Acida

^dLDA Lignina

^eNDS: Fracción soluble Detergente Neutra *Calculado como 1000 – total de cenizas – FDN Fuente: Deaville y Givens, 2001.

^fCurva de calibración Ácido Tánico 12%

Similares contenidos de proteínas han sido reportadas (221-258 g/kg de MS) para *Xanthosoma saggitifolium* (Leterme *et al.*, 2005). Para las leguminosas evaluadas los valores de proteína estuvieron dentro de los rangos citados por Cook *et al.*, 2005 (Tabla 24); se han encontrado contenidos menores para *Canavalia ensiformis*, *Lablab purpureus* (Tabla 24) (Savon *et al.*, 2004); El anterior autor indica que el 92 y 99% del N para *Canavalia* y *Lablab*, está representado en proteína verdadera, un alto valor comparado con especies no leguminosas forrajeras como morera y nacedero (87 y 83%).

Tabla 24 Contenido de proteína de algunas leguminosas forrajeras

Especie	Proteína Cruda (g/Kg de MS)	Fuente
<i>C. brasiliensis</i>	231,0	Cook <i>et al.</i> , 2005
<i>C. ensiformis</i>	203	Savon <i>et al.</i> , 2004
<i>V. unguiculata</i>	140-210	Cook <i>et al.</i> , 2005
<i>V. unguiculata</i>	185-253,8	Díaz, 2000 y Savon <i>et al.</i> , 2004
<i>L. purpureus</i>	210-380	Cook <i>et al.</i> , 2005
<i>Lablab purpureus</i>	152	Savon <i>et al.</i> , 2004
<i>S. guianensis</i>	170-260	Cook <i>et al.</i> , 2005
<i>D. velutinum</i>	160-270	Cook <i>et al.</i> , 2005
<i>C. argentea</i>	180-300	Cook <i>et al.</i> , 2005

El contenido de cenizas de las forrajeras osciló en un rango de 87-144 g/kg de MS, el contenido de la Torta de soya fue en promedio dos veces menor que el contenido en los follajes tropicales. La alta correlación negativa entre el contenido de cenizas y la energía bruta ($r = -0,72$) se refleja en los bajos valores de energía obtenidos para *C. brasiliensis*, *V. unguiculata* y *L. purpureus* (Tabla 23).

El contenido de cenizas se relaciona con la cantidad de minerales presentes en las especies. Los valores de las especies forrajeras estuvieron dentro del rango reportado, para nacedero 135-323 y 92-163 g/kg para morera (Savon *et al.*, 2004; Leterme *et al.*, 2005). El alto contenido de cenizas en el nacedero está asociado al alto contenido de Calcio, propio de la familia Acanthaceae (Rosales, 1997) y a las concentraciones de carbonato de calcio (Savon *et al.*, 2004). El valor de energía para *C. brasiliensis* fue similar al reportado por Savon *et al.* (2004) de 14,7 MJ/kg de MS y el valor de *Lablab* fue mayor que el encontrado por los mismos autores (18,5 MJ/kg de MS). Se puede pensar que el alto contenido de cenizas, disminuye el contenido de materia orgánica y por ende el calor producido por la combustión (EB) de la muestra. Sin embargo esta condición no se cumple en Nacedero cuyo contenido de cenizas es de 320 g/Kg de MS y la producción de Energía bruta es de 15,2 MJ/Kg de MS (Savon *et al.*, 2004).

La pared celular (FDN) de los follajes vario entre 311-578 g/kg de MS, con los valores más altos para *C. brasilianum* y *S. guianensis* y menores para *L. purpureus* y *V. unguiculata*. El contenido de FDN de los forrajes supero 2,4 veces a la torta de soya. Diferente contenido de hemicelulosa, celulosa y lignina fue obtenido entre las especies estudiadas (98-246, 125-297 y de 22-122 g/kg de MS, respectivamente).

Respecto al contenido de la fracción fibrosa la única especie que presento valores similares a los reportados por otros autores fue *X. saggitifolium*, el contenido de Lignina 122 g/Kg de MS fue 3 veces mayor que el promedio máximo reportado (Tabla 25) (Leterme *et al.*, 2005).

Tabla 25 Composición fracción fibrosa de forrajes

Especie	FDN ¹	FDA	LDA	HEM	CEL	Fuente
		g/kg de MS				
<i>X. saggitifolium</i>	225-371	129-250	32-46			Leterme et al., 2005
<i>C. brasiliensis</i>	441	335	65	106		Cook et al., 2005
<i>C. ensiformis</i>	626,1	432,2	106	208,8	319,7	Savon et al., 2004
<i>V. unguiculata</i>	434,6	382,8	99		193,7-281,7	Dihigo et al., 2004
<i>L. purpureus</i>	717,8	499,2	130,9	218,6	361,1	Savon et al., 2004

¹FDN Fibra Detergente neutro, FDA: Fibra detergente ácido; LDA: Lignina; HEM: Hemicelulosa; CEL: Celulosa

Los contenidos de la pared celular de las leguminosas de *C.brasiliensis*, *V.unguiculata* y *L.purpureus* fueron menores a los reportados por otros autores (tabla 25). Cuando hay sobreestimación significativa del contenido de la pared celular y lignina puede ser debido a la presencia de taninos y compuestos fenolicos de alto peso molecular que pueden formar complejos con las proteínas y los carbohidratos estructurales (Martínez y Valverde *et al.*, 2000 citado por Savon *et al.*, 2004).

Valores similares a los encontrados en el presente estudio respecto al contenido de hemicelulosa han sido previamente publicados (100-250 g/kg de MS) (Scull y Savon, 2004). Es importante destacar, que la hemicelulosa es más digestible que la celulosa por los monogástricos, debido a que ella está en menor porción asociada con la lignina (Maynard *et al.*, 1979).

El contenido de fracción soluble (NDS) entre las especies forrajeras oscilo entre 335-572 g/Kg de MS, el valor mayor fue para la T. soya. Para otros alimentos fibrosos como el ensilaje de maíz en diferentes estados de madurez es 380 - 514 (Deaville y Givens 2001), estos autores relacionan este parámetro con la fermentación y producción de gas en el tracto gastrointestinal.

Con respecto al contenido de fenoles, entre leguminosas, la especie que mayor presentó fue *C. molle* (5,5%) y menor *D. velutinum* (4,4%), valores inferiores al 10%, que se pueden considerar bajos en la alimentación de rumiantes (Cortes et al., 2008); con los reportes obtenidos no es posible hacer una correlación entre el contenido de lignina y contenido de fenoles (mayor contenido de lignina mayor contenido de fenoles) de acuerdo a lo evaluado por Savon *et al.*, 2004. El contenido en *V. unguiculata* fue mayor a los encontrados en diferentes variedades de *Vigna* 0,3-0,6% (Savon *et al.*, 2006), quienes expresaron los resultados en equivalente de catequina (curva de calibración catequina). El follaje de variedades de *V. unguiculata* tienen bajo contenido total de polifenoles y de taninos condensados, si se compara con otras especies utilizadas comúnmente en la alimentación animal. (Scull y Savon 2003).

Para *L. purpureus* y *D. velutinum* el follaje es ausente de taninos (Schaaffhausen, 1963; Vivas, 2005). La cantidad de fenol encontrado en el

presente trabajo para *C. brasiliensis* (4,9%) es menor al reportado por Cook *et al.*, 2005 (8,42%), quienes a su vez aseguran que *C. argentea* solo contiene trazas de estos, resultados similares con los encontrados en el trabajo.

Las especies más promisorias por su mayor contenido de proteína fueron: *C. brasiliensis* y *D. velutinum*, por otro lado *V. unguiculata* y *L. purpureus* tuvieron mayor contenido de la fracción soluble (NDS). Por otro lado, *S. guianensis* fue la especie que mayor contenido de FDN y celulosa aspectos que influyen negativamente en la digestibilidad.

4. 2 Digestibilidad enzimática in vitro prececal de Materia seca (MS) y Energía

Se observaron diferencias estadísticas en la digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca (DIVMS) entre los follajes de leguminosas, *X. saggitifolium* y la torta de soya, ($P < 0.001$), el valor más alto fue para T. Soya, entre las especies forrajeras *C. molle* y *V. unguiculata* presentaron los valores más altos respectivamente sin ser diferentes estadísticamente (tabla 26); los valores menores fueron para las especies *S. guianensis* y *C. brasilianum* sin presentar diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 26 Digestibilidad *in vitro* de la MS y Energía de Leguminosas forrajeras, Bore (Xs) y Torta de soya

Tratamiento	% Digestibilidad in vitro(DIV)	
	MS	Energía
Pr>F	<0,0001	<0,0001
Torta Soya	82,4 a	
<i>C. molle</i>	70,8 b	79,9 a
<i>V. unguiculata</i>	69,6 b	77,0 a
<i>D. velutinum</i>	63,4 c	64,6 c
<i>X. saggitifolium</i>	61,8 cd	64,6 c
<i>C. brasiliensis</i>	60,0 ed	70,9 b
<i>C. argentea</i>	58,2 e	64,0 c
<i>L. purpureus</i>	48,6 f	50,6 d
<i>S. guianensis</i>	29,5 g	25,0 f
<i>C. brasilianum</i>	27,0 g	30,9 e

De la misma manera, la mayor Digestibilidad *in vitro* de la Energía en los forrajes se continuó presentando *C. molle* y *V. unguiculata*, y los valores menores igualmente los tuvieron las especies *C. brasilianum* y *S. guianensis*. La correlación entre Digestibilidad *in vitro* de la materia seca y energía estuvieron estrechamente correlacionados ($r = 1$). Los promedios y diferencias se observan en la Tabla 26

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) a nivel prececal muestra una alta correlación con el contenido de Celulosa y FDA ($r = -0,8$) y el contenido de FDN ($r = -0,7$) presente en los forrajes. La DIVMS de las especies leguminosas con el contenido de LDA también presenta una alta correlación ($r = -0,8$); *S. guianensis* y *C. brasilianum* con mayor contenido de FDA y Celulosa reportaron la menor DIVMS a nivel prececal, mostrando diferencias altamente significativas con las demás especies forrajeras, aunque *C. argentea* y *D. velutinum* igualmente tienen un alto contenido de Celulosa 195 y 211 (g/Kg MS) respectivamente y FDA, la fracción de LDA es baja por lo que probablemente también tiene una alta DIVMS (tabla 26). La lignina es completamente indigerible, y su determinación sirve para predecir la DIVMS y la energía de un alimento (Machao, 1997), porque se encuentra envolviendo a la celulosa y hemicelulosa y restringe al acceso a estos carbohidratos, que sí pueden ser digeribles (Cho *et al.*, 1997).

Por otro lado, Ruiz (2005) reportó DIVMS para *X. saggitifolium* de 50,7% valor menor al encontrado en otros forrajes como *T. gigantea* y *M. alba* (33 y 48,2% respectivamente).

Las especies *C. molle*, *V. unguiculata*, *D. velutinum*, *X. saggitifolium* y *C. brasiliensis* reportaron DIVMS mayores a 60%. Estos resultados posiblemente se puedan asociar con la calidad de fibra a pesar de que son especies con alto contenido de fibra comparado con otras fuentes proteicas (Torta de soya) utilizadas en la alimentación de monogástricos, tienen adecuadas DIVMS, posiblemente porque las características de la fibra sea más accesible al ataque enzimático, al relacionarlo con lo expuesto por Souffrant (2001), Rodríguez y Figueroa, (2000), Wenk (2001) y Bergner (1980), en referencia a la importancia de las propiedades físico-químicas de la fibra del alimento en los procesos digestivos, más que la cantidad de esta. Entre otras propiedades que se pueden citar es ramificación, metoxilación y melificación de las fibras, ya que por una parte impide el acceso de las enzimas al complejo, y por otra, forma enlaces muy fuertes y resistentes al ataque enzimático (Soler *et al.*, 1998)

Cabe anotar que del total de la Fibra dietética en las plantas forrajeras, la mayor parte es Fibra dietética insoluble, lo que puede conferir baja digestibilidad. Por otro lado Noblett y Goff, (2001) identifican que los valores más altos en la digestibilidad de la fibra dietética son conferidos por el alto contenido de pectinas y bajo contenidos de lignina

Spanghero y Volpelli (1999) concluyen que la digestibilidad de la energía tiene una alta correlación negativa en relación a los componentes de la fibra ($0,91 < p < 0,01$).

Botero, (2004) evaluó Digestibilidad *in vivo* a nivel ileal de MS, y Energía en dietas para cerdos incluyendo hasta el 30% de harina de *X. saggitifolium* y encontró valores más bajos a los encontrados en este trabajo. Quirama y Caicedo, (2003) encontraron valores similares en la digestibilidad de los 3 forrajes en la alimentación de cerdos de 35kg con un porcentaje del 35% de

incorporación. En cerdos ileorrectomizados alimentados con dietas que incluía 20% de harina de hoja de *L. leucocephala* Ly y Castro 1999 reportan valores relacionados con los encontrados en esta investigación (Tabla 27).

Tabla 27 Digestibilidad de Materia Seca (MS) y Energía (E) de leguminosas forrajeras

Especie	DMS ¹	DE ¹	Fuente
³ X. <i>Sagittifolium</i>	68,4	70,7	Botero, 2004
⁴ X. <i>Sagittifolium</i> ^a	56,9	52,8	Leterme et al., 2005
³ L. <i>Leucocephala</i>	65,7	72,5	Ly y Castro, 1999
⁴ L. <i>Leucocephala</i> ⁴	30	Nd	Ly et al., 2001
²⁴ Leguminosas forrajeras ⁴	21,7-30	Nd	Ly et al., 2001
⁴ V. <i>unguiculata</i> Var Cuba H82 ⁴	36,5	Nd	Dihigo et al., 2004
⁴ V. <i>unguiculata</i> var Verde brasil	54,3	Nd	Osorio, 2008
⁴ D. <i>velutinum</i>	48,1	Nd	Osorio, 2008
⁴ C. <i>brasiliensis</i>	45,7	Nd	Osorio, 2008
⁴ C. <i>argentea</i>	43,7	Nd	Osorio, 2008

¹DMS: Digestibilidad de materia seca. DE: Digestibilidad de energía.

²*Acacia auriculiformis*, *Desmanthus virgatus*, *Flemingia macrophylla*.

³Digestibilidad *in vivo* prececal

⁴Digestibilidad *in vitro*

Nd: No determinado

Al relacionar las digestibilidades encontradas, los valores superan a los encontrados por Ly, 2001 quien publico las DMS de diferentes forrajes tropicales (Tabla 27), se resalta que las especies leguminosas no coincidieron con las estudiadas en este trabajo, sin embargo Dihigo, 2004, evaluó digestibilidad *in vitro* de *Vigna unguiculata* y los valores encontrados en el trabajo supera casi dos veces a los publicados por este autor (Tabla 27). La baja digestibilidad de materia seca de *Vigna unguiculata* se adjudica en mayor parte a su baja digestibilidad de FDN. Al parecer *Vigna unguiculata* tiene la proteína muy ligada a su fibra, lo que dificulta el ataque de enzimas, principalmente de proteasas (Dihigo *et al*; 2002 citado por Dihigo, 2004) o la presencia de otras sustancias que interfieren en la digestibilidad de nutrientes, como son los compuestos fenólicos (Delgado *et al*; 1998 citado por Dihigo, 2004)

Los datos encontrados son más altos a los reportados por Osorio 2008 para *V. unguiculata*, *D. velutinum*, *C. brasiliensis* y *C. argentea* respectivamente. Sin embargo tuvieron la misma tendencia y coincidieron las especies con mayor DIVMS.

4. 3 Cinética de la hidrólisis enzimática de la proteína

En la figura 7, se observa el comportamiento de los follajes y la torta de soya con respecto a la hidrólisis enzimática de la proteína

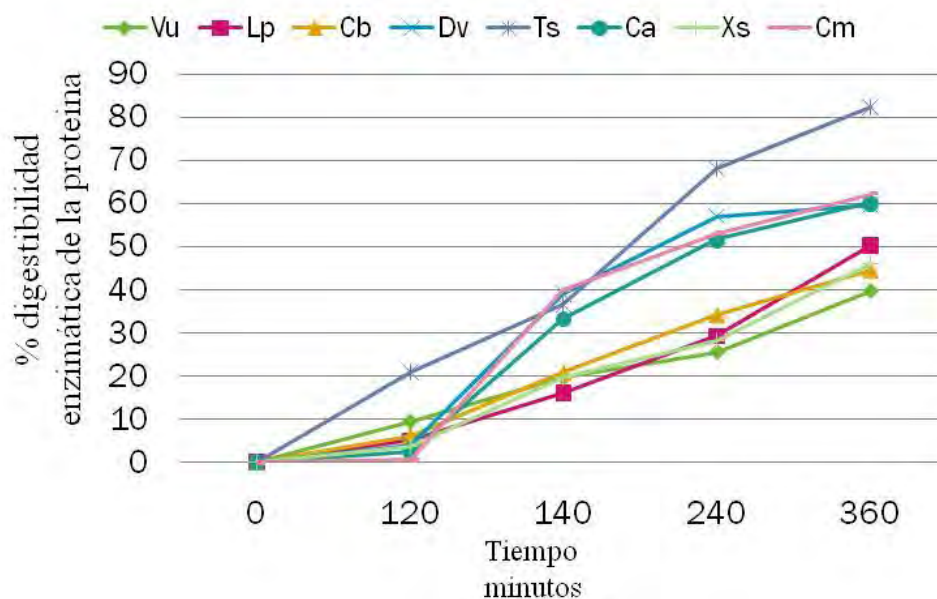


Figura 7 Grado de hidrólisis *in vitro* de la proteína de follajes tropicales y el control soya (120 min pepsina + 240 min pancreatina).

El grado de hidrólisis de la proteína por pancreatina (360 min), indicaron diferencias en la hidrólisis de la proteína ($P < 0.001$). En la Figura 7 Se puede observar que las especies forrajeras presentan una declinación al final de pepsina pero este comportamiento puede asociarse a una baja digestión por acción de pepsina y que la mayor hidrólisis se produce por efecto de la pancreatina, comportamiento esperado ya que la mayor parte de la digestión de proteínas se produce a través de la enzima pancreática, entre ellas tripsina y quimiotripsina. Celiz, 2002.

A partir del efecto de la pancreatina la hidrólisis de las proteínas de la T. soya y los forrajes empezó a incrementar considerablemente, entre 140 y 240 min la digestibilidad aumento entre 23 – 50,3%, las especies con menor incremento fueron *V. unguiculata* y *C. molle* con valores de 22,9 y 23,2% respectivamente. La T. soya incremento en un 52,3%. *V. unguiculata* fue la de menor digestibilidad a los 360 min, mientras *C. molle* esta dentro de las más altas digestibilidades a ese tiempo (Tabla 28).

La cinética de la hidrólisis de proteína de la torta de soya estuvo relacionada con los valores encontrados por Torres, 2009 con soya extruida (tiempo final de pepsina 15.8%). Resultados similares con la evaluación de soya obtuvo Ly y Delgado, 2009 una digestibilidad *in vitro* de N de 80,43%

A los 360 minutos de hidrólisis, se encontraron diferencias entre los follajes y la T. soya ($P < 0.0001$), la digestibilidad de la proteína de T. soya fue mayor 82,3%. que el de los follajes, y entre ellos, la mayor digestibilidad de la proteína fue para *C. molle* y menor para *V. unguiculata* (Tabla 28)

Tabla 28 Digestibilidad *in vitro* de proteína de forrajes y torta de soya

Especie	% Digestibilidad	
<i>V. unguiculata</i>	39,65	d
<i>L. purpureus</i>	47,57	bcd
<i>C. brasiliensis</i>	44,10	d
<i>D. velutinum</i>	59,71	bc
<i>T. soya</i>	82,30	a
<i>C. argentea</i>	61,43	b
<i>X. saggitifolium</i>	46,06	cd
<i>C. molle</i>	62,21	b

Las marcadas diferencias en la digestibilidad *in vitro* de la proteína, entre la torta de soya y los follajes confirman que el contenido de fibra influye negativamente sobre la digestibilidad de los nutrientes especialmente el contenido de proteína (Fernández y Jorgensen 1986 citado por Safiye *et al.*, 2000). La alta resistencia de las proteínas de los follajes de forrajeras tropicales a la acción enzimática posiblemente sea debido al que una gran proporción de la fracción proteica está asociada a la fibra, Rodríguez y Figueroa 1995 Safiye *et al.*, 2000. Eggum (1992) citado por Díaz (2001) al realizar estudios en ratas, cerdos y humanos, demostraron la influencia negativa de la fibra dietética en la digestión y utilización de las proteínas. La estructura y las propiedades funcionales de la fibra dietética, son las principales responsables de este efecto negativo. Adicionalmente, las fibras impiden el acceso de las enzimas a sus respectivos sustratos.

Respecto a los componentes de la fibra, la hemicelulosa es más digestible que la celulosa en animales monogástricos debido en parte al efecto hidrolítico del ácido estomacal en esta fracción (Unden y Van Soest, 1982). El contenido de hemicelulosa y la digestibilidad de la proteína de las plantas forrajeras tuvieron una correlación positiva de ($r = 0,68$)

Diferentes autores que han evaluado hojas de plantas tropicales en la alimentación animal adjudican una razón más de la baja digestibilidad, a la presencia de FAN como taninos asociados a la parte fibrosa los cuales puede ejercer un efecto negativo adicional a la digestibilidad y utilización de la proteína principalmente (Murgueitio, 1994). Complejo tanino-proteína y tanino-celulosa reducen el acceso de enzimas al ataque de la proteína (Dung *et al.*, 2002). Este efecto no se considera tan marcado como el de la fracción fibrosa, debido a que las especies leguminosas en estudio pueden ser consideradas como especies con bajo contenido de taninos.

La digestibilidad enzimática de la proteína, tiene alta correlación negativa con el contenido de cenizas ($r = - 0,89$) ($P > 0,0027$) (tabla 30)

Leterme *et al.*, (2005) evaluaron la digestibilidad *in vivo* ileal de la proteína en cerdos alimentados con nacedero, morera y *X. saggitifolium* encontraron

valores de 36,3, 33,0 y 34,4% respectivamente valores menores a los encontrados en esta investigación (39,6 – 61,4%), en contraste, la digestibilidad *in vitro* de proteína encontrados por Allen y Ly 2007 en forrajes tropicales difieren (21-44%).

Botero, (2004) evaluó Digestibilidad ileal *in vivo* de PC en dietas para cerdos incluyendo hasta el 30% de harina de *X. saggitifolium* y encontró valores mayores a los encontrados (73,6%), *X. saggitifolium* sobresalió al compararlo con follaje de morera y nacedero. Aunque no presento diferencias significativas con morera. y corroboraron los resultados encontrados por Montoya (2003) quien encontró la misma tendencia en digestibilidad a nivel *in vitro*.

Al comparar la digestibilidad de proteína con ensayos *in vivo* prececal, la digestibilidad es mayor, porque en pruebas *in vitro* no se tienen en cuenta las pérdidas endógenas (alto contenido proteico) que se produce en la digestibilidad y paso de alimentos fibrosos en el tracto digestivo. Se conoce que la mayoría de los polisacáridos estructurales influyen significativamente en las pérdidas endógenas. El tipo de fibras es lo más importante. (Leterme *et al.*, 1998)

Por otro lado Osorio, (2007) encontró valores mayores en Digestibilidad *in vitro* de la proteína de *D. velutinum*, *C. brasiliensis*, *V. unguiculata*, con 72%, 66,6%, 58,6%, respectivamente y similar al encontrado con *C. argentea* 65,9%.

La diferencia en la digestibilidad de la proteína también se puede relacionar con la composición de la fracción proteica de leguminosas, está compuesta en mayor proporción por globulinas (rubisco) y prolaminas, ésta última la consideran con una baja digestibilidad intestinal y se liga a niveles de taninos (Ruiz, 2008) además está entre el grupo que posee más enlaces bisulfuro que lo hace resistente a la degradación en el rumen. (Sniffen, 1974; citado por Correa, 2001). Esto podría explicar que a pesar de que las especies *V. unguiculata* y *X. saggitifolium* presentaron buena DIVMS (69,6 y 61,8% respectivamente), fueron las especies más baja en cuanto a la digestibilidad *in vitro* de la proteína cruda (DIVP) (39,6 y 46,06 respectivamente).

Las diferencias de digestibilidad *in vitro* observadas entre las especies proteicas evaluadas pueden ser explicada por la diferencia en la composición fibrosa. Rodríguez y Figueroa (2000), concluyeron que la naturaleza de la fibra influye sobre la digestibilidad *in vitro* del nitrógeno, probablemente debido al tipo de enlace y la asociación que se establece entre la fibra y la fracción proteica y no a la cantidad de FDN, o sea que la digestibilidad de los nutrientes de los alimentos se ve afectada heterogéneamente según la composición de la fibra de cada uno de ellos. (Botero, 2004). Las propiedades químicas de los componentes de la fibra que afecta su degradación son la ramificación y metoxilación ya que por una parte impide el acceso de las enzimas al complejo, y por otra, forma enlaces muy fuertes y resistentes al ataque enzimático (Soler *et al.*, 1998). Por otra parte, también se puede explicar por la Asociación del N a la Fibra dietética: Los forrajes contienen un alto porcentaje de proteína ligado a la fibra. Rodríguez y Figueroa, 2000 evaluaron el porcentaje de nitrógeno

unido a la FDN en forrajes, encontrando valores entre 43 y 92% para la hoja de *T. gigantea* y 59 y 64 para *X. saggitifolium*, mientras que en cereales como maíz y cebada presentan valores de 8 y 9% respectivamente (Leterme, 2002). Igualmente el contenido de prolaminas que pueden estar asociado con compuestos polifenoles así como la harina del follaje de *L. leucocephala*, lo que interfiere en la acción enzimática (Ruiz *et al.*,2008). A pesar que los contenidos de taninos son bajos en los follajes evaluados (Tabla 23), en las leguminosas hay mayor proporción de taninos ligados a la proteína que ligados a la fibra, posible razón del porque la digestibilidad o la disponibilidad de proteínas al ataque enzimático es reducido en estas especies

4. 4 Fermentación cecal in vitro

4. 4.1 Cinética de producción de gas

Las figuras 8 y 9 se muestran las curvas obtenidas durante la fermentación de plantas forrajeras, y torta de soya en tiempos de incubación 30h y 99h, observándose para los forrajes un incremento de producción marcado después de las 8 horas (Fig 8 y 9) después de las 48 horas la producción es más baja (Fig 9)

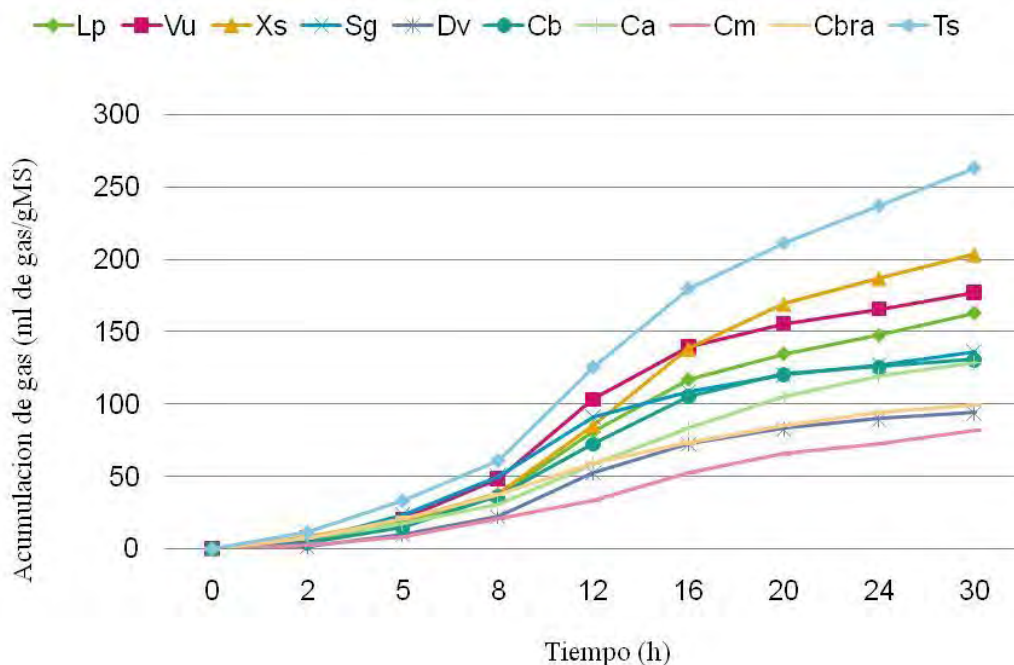


Figura 8 Cinética de producción de gas de plantas forrajeras y torta de soya por un tiempo de incubación de 30h

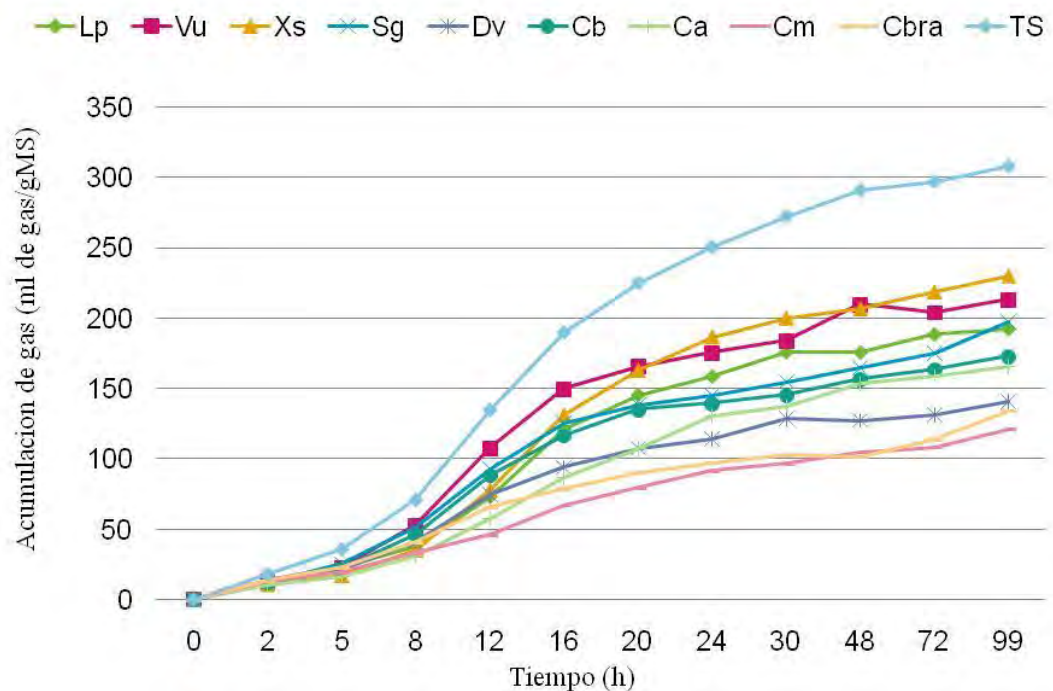


Figura 9 Cinética de producción de gas de plantas forrajeras y torta de soya por un tiempo de incubación de 99h

Como se puede observar los forrajes con curvas de producción de gas más altas (*X. saggitifolium*, *V. unguiculata* y *L. purpureus*) presentaron igualmente valores inferiores en la digestibilidad enzimática de la proteína y a la vez *X. saggitifolium* y *V. unguiculata* presentaron digestibilidad de la Materia seca superiores mayor a 61%.

4. 4.2. Parámetros de fermentación

Los parámetros de fermentación del modelo de France *et al.*, (1993) del material resistente a la hidrólisis por pepsina y pancreatina son presentados en la tabla 29.

Tabla 29 Variables de fermentación de follajes forrajeros y torta de soya con el modelo de France *et al.* (1993) y producciones de ácidos grasos volátiles después de la fermentación *in vitro* (30 h de incubación) y (99h de incubación).

Parámetro de cinética ³	Follajes forrajeros ¹									Ts	CV ¹	P>F
	Vu	Lp	Cm	Cbra	Sg	Ca	Cb	Dv	Xs			
L (h) ²	3,48 abcd	3,82 abc	2,35 e	2,73 cde	3,24 abcde	2,56 de	4,14 ab	3,62 abcd	4,56 a	3,03 abcde	13,47	0,0071
T/2 (h) ³	10,86 a	13,74 a	11,05 a	11,96 a	13,39 a	13,39 a	10,67 a	10,49 a	14,03 a	12,42 a	12,70	0,2139
Pf (ml/g MS) ^{30h}	177,36 cb	176,03 bc	83,45 e	99,6 ed	135,3 cd	159,9 bc	132,1 cd	97,6 de	214,4 b	286,9 a	9,9	0,0001
Pf (ml/g MS) ^{99h}	207,5 b	183,79 cb	111,67 d	124,6 cd	211,2 b	161,5 cbd	160,3 cbd	131,6 cd	218,7 b	301,3 a	11,5	0,0001
Ácidos grasos volátiles (mmol/l)												
Acético ^{30h}	30,30 ba	20,49 e	24,36 dce	21,86 e	24,02 dce	28,71 bc	22,93 de	24,58 dce	27,73 bcd	34,47 a	13,50	0,0001
Acético ^{99h}	35,95 abc	36,12 abc	30,50 bcd	36,30 abc	32,10 bcd	27,64 d	34,38 abcd	27,98 dc	38,04 ab	42,15 a	13,18	0,0001
Propiónico ^{30h}	10,62 b	8,05 c	8,76 c	7,84 c	8,41 c	10,63 b	8,0 c	8,72 c	9,44 cb	14, 97 a	11,70	0,0001
Propiónico ^{99h}	12,52 b	10,44 b	10,77 b	14,10 ab	10,67 b	10,36 b	11,68 b	10,33 b	12,25 b	17,28 a	18,48	0,0005
Butirico ^{30h}	3,75 bc	2, 62 e	3,36 cdeb	2,93 ed	3,19 dec	4,04 b	2,99 dec	3,35cb	3,48 dcb	5,55 a	13,90	0,0001
Butirico ^{99h}	4,80 ab	3,55 b	4,35a b	6,03 a	4,30 ab	3,60 b	4,64 ba	4,49 ab	5,22 ab	6,58 a	20,54	0,0049
Acidos grasos totales ^{30h}	44,68 b	31,2 e	36,5 bcde	32,6 de	35,6 dec	43,4 bc	33, 9 de	36,6 bcd	40,67 bcd	54,95 a	19,15	0,0040
Acidos grasos totales ^{99h}	66,10 abcd	63,42 bc	59,49 bc	72,65 ab	59,05 c	52,67 c	62,96 bc	56,16 bc	68,54 abc	82,16 a	15,03	0,0001

¹Vu *Vigna unguiculata*, Lp *Lablab purpureus*, Cm *Centrosema molle*, Sg *Stylosanthes guianensis*, Ca *Cratylia argentea*, Dv *Desmodium velutinum*, Xs *Xanthosoma saggitifolium* y Ts torta de soya.

² CV: Coeficiente de variación.

³ L, tiempo de retraso de la fermentación (h); T/2, Tiempo medio de la asíntota para la mayor producción de gas (h); Pf, Producción final de gas (ml/g MS)

^{abcd} Valores con letras diferentes en una misma fila difieren significativamente $P < 0.05$.

La degradación de gas *in vitro* es una técnica que permite simular el proceso de fermentación del intestino grueso en los monogástricos (Willians *et al.*, 2005).

4.4.2.1 Producción final (Pf)

La producción final de gas (Pf) ml para 30 y 99h fue mayor para T. soya ($P < 0.001$) presentando diferencias estadísticas significativas con las especies forrajeras. Entre las especies forrajeras se destacaron *X. saggitifolium*, *V. unguiculata*, *L. purpureus* y *C. argentea*, las más bajas correspondieron a *C. molle*, *D. velutinum* y *C. brasilianum*. (Tabla 29)

La mayor producción de gas de la torta de soya puede deberse a que es un sustrato con mayor cantidad de carbohidratos solubles (almidón), bajo contenido de celulosa 70gkg/MS y menor porcentaje de lignina 10 gkg/MS comparado con los forrajes, lo que confiere una mayor disponibilidad de nutrientes para la supervivencia y actividad metabólica de los microorganismos responsables de la fermentación y por ende producción de gas. (Nagadi *et al.*, 2000)

La diferencia dada entre los forrajes posiblemente dependa de la composición y estructura de los carbohidratos presentes en estos, la solubilidad también está vinculada a una fermentación rápida (Hoover y Stokes, 1991) ya que la hinchazón y capacidad de retención de agua aumenta la superficie accesible a las bacterias.

La producción total de gas para *X. saggitifolium* en un tiempo de 144 horas de incubación fue similar al obtenido por Ruiz, 2005, de 234 ml de gas también reportó valores para *M. alba* y *T. gigantea* 208 y 128 respectivamente. (Ruiz, 2005). Alvarez, 2009 reportó producción de 105,8ml para *M. alba*

La producción total de gas, tanto para la T. soya como para los forrajes para el tiempo 30 y 99 horas presenta alta correlación positiva ($r = 0,70$) y ($r = 0,61$) con el contenido de NDS y Correlación negativa ($r = - 0,67$) y ($r = 0,54$) con el contenido de FDN. Moss y Given 1998; Bindelle *et al.*, 2007, resaltan las tendencias de correlación negativa y positiva que presenta la producción de gas con el contenido de FDN (Fibra insoluble) y NDS (incluye almidón).

La diferencia marcada de la producción de gas entre la T. soya y los forrajes, posiblemente son debidos a la disponibilidad de carbohidratos fermentables, mientras que la diferencia presentada entre los forrajes puede relacionarse en la disponibilidad de nitrógeno o fuentes proteicas fermentables para la supervivencia y actividad de los microorganismos, debido a que las especies que tuvieron menor producción de gas coincidieron con aquellas que tuvieron mayor digestibilidad enzimática de proteína (por encima del 59%) como *C. molle* y *D. velutinum*.

Por otro lado, *C. brasilianum* representa la especie de menor producción de gas y al mismo tiempo tuvo una menor digestibilidad de MS por el alto contenido de FDN, *V. unguiculata* y *X. saggitifolium* presentaron una digestibilidad de materia seca por encima del 60%, y fueron las especies con mayor producción de gas; resultados que concuerdan con lo reportado por

Sileshi et al. (1996), quienes empleando el método descrito por Theodorou et al. (1994) y utilizando como inóculo contenido ruminal, tuvieron como resultado para determinar la producción de gas in vitro de diferentes forrajes, una alta correlación entre los parámetros de digestibilidad de la MS in vitro y la composición química de los forrajes; a mayor contenido de FDN menor digestibilidad de la MS in vitro y por consiguiente menor producción de gas. Relaciones estequiométricas han demostrado que aproximadamente 0,47ml de gas se deben producir por mg de FDN fermentada (Wolin, 1960; Herrero y Jessop, 1996 citado por Nagadi *et al.*, 2000)

Se puede pensar que las especies forrajeras que tuvieron un mayor volumen de gas total, al mismo tiempo deberían presentar mayor porcentaje de degradación de la FDN, lo cual coincide con lo reportado por Fondevila, Nogueira y Barrios (2002), quienes evaluaron forrajes de leguminosas con líquido ruminal y encontraron que la leguminosa que produjo un mayor volumen de gas presentó al mismo tiempo la mayor digestibilidad de la materia orgánica y la leguminosa que produjo el menor volumen de gas presentó la menor digestibilidad de la materia orgánica.

La composición de la fibra influye en la hidrólisis de sus componentes, la celulosa (Noike et al., 1985; Lynd *et al.*, (2002), xilanos y arabinoxilanos (Strobel y Russell, 1986; Hopkins *et al.*, 2003) presenta una limitante para la fermentación microbiana, contrario a lo que pasa si tuviera alta cantidad de inulina y pectina. Cuando la hidrólisis es lenta, se requiere más energía para el mantenimiento de las células por unidad de tiempo quedando menos energía disponible para el crecimiento y fermentación.

Nagadi, 2000 afirma que los principales factores que influyen en la fermentación de alimentos son las características de la fracción de carbohidratos tales como la proporción de almidón o celulosa junto con la lignificación de la pared celular, y Disponibilidad de nitrógeno fermentable requerido por los microorganismos que sean capaces de sintetizar, como ácidos nucleicos y proteínas.

4.4.2.2 Latencia (L)

El periodo de latencia (L) representa el tiempo necesario para la hidratación del sustrato y la alteración física o química de la fibra dietética (ej. pectinas, gomas) y del almidón resistente, que puede ser requerida antes de que las bacterias colonicen el sustrato e inicien la actividad enzimática, en este sentido una más rápida colonización podría ser explicado por una mayor afinidad de las bacterias por el sustrato. (Torres, 2009).

La T. soya fue una especie de menor latencia 3,03h y no tuvo diferencias estadísticas significativas con *S. guianensis*, *C. argentea* y *C. molle*; las especies forrajeras con mayor periodo de latencia fueron *V. unguiculata*, *L.*

purpureus, *C. brasiliensis*, *D. velutinum* y *X. saggitifolium* (3,48 – 4,56h) (Tabla 29).

Ruiz, 2005 encontró valores menores a los encontrados, 2,9h para *X. saggitifolium* y para otras forrajeras como *M. alba* y *T. gigantea* 2,80 y 1,65h respectivamente en un tiempo de 144h. Por otra parte Torres, 2009 encontró un periodo de latencia de la soya extruida de 1h en tiempo de 72 horas.

El tiempo de latencia *in vitro* de ensilajes de gramíneas fermentado con liquido ruminal fue de 0,5 – 1,6 h. Davies *et al.*, 2000. De henos fué de 5,2-5,9h Nagadi *et al.*, 2000 y Salvado de trigo 0,86 h Ruiz, 2005.

4.4.2.3 Tiempo medio de la asíntota para la mayor producción de gas (h) (T/2)

No se presentaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$) en el tiempo teórico de máxima producción de gas (T/2), entre los forrajes y la T. soya. Se resalta que esta condición probablemente sea debido a que todos los sustratos previamente fueron digeridos con enzimas pepsina y pancreatina.

Los forrajes con mayor cantidad de nutrientes no hidrolizado de rápida fermentación tales como azúcares libre o fibra soluble, son los que menor tiempo se demoran en L y T/2. (Nagadi, 2000), además, los microorganismos fermentan sustratos con altos niveles de proteína cruda con el fin de reciclar el contenido de N como sustrato para ellas mismas (Hooverokes, 1991; Cono *et al.*, 2005), esta condición se cumple para *V. unguiculata* y *C. brasiliensis* que tuvieron las menores digestibilidades enzimáticas de la proteína (Tabla 28).

La latencia es más larga utilizando como inóculo heces fecales posiblemente porque en el ciego/colon la actividad de fermentación es menor a la que pasa en el rumen. La baja fermentación en el ciego-colon está relacionada en función de varios factores como sustratos de menor valor nutricional (Van soest, 1994) tiempo de retención más corto (Dixon y Nolan, 1982) a una menor población de bacterias (Kern *et al* 1974; Sharpe *et al* 1975) y a la ausencia de protozoos (Hungate, 1966; Hobson, 1971) pero una concentración similar de hongos (Davies *et al* 1993) Mauricio *et al* 2001.

Por lo tanto, los microorganismos presentes en las heces es una flora con supervivencias y actividad metabólica baja y no tienen un crecimiento activo como se encuentra en el rumen.

Las fracciones del alimento más utilizado por la microflora intestinal son los carbohidratos (Jorgensen *et al.*, 1996) que escapan de la digestión del intestino delgado hacia el intestino grueso donde son fermentados (Bach Knudsen *et al.*, 1993), aunque el contenido de carbohidratos de la muestra cobran mayor importancia, también se debe considerar otros sustratos potenciales que produce rápida fermentación como son las proteínas que

escapan de digestión al igual que algunos lípidos, proteínas endógenas, bilis y mucinas. (Coles *et al.*, 2005). Además la lignina (polímero no polisacárido) no es digerible ni fermentable y se cree que inhibe la fermentación de los carbohidratos y proteínas que están ligada a ellas (Cumplings, 1996 citado por Coles *et al.*, 2005)

En resumen se indica que la fermentación de los carbohidratos depende de la diferencia de composición y estructura de la fibra y solubilidad vinculada a una rápida fermentación (Hoover y Stokes, 1991). De igual manera pudo estar atribuido a, la diferencia en la composición de fibra dietética, (celulosa, hemicelulosa, pectinas, gomas, mucilagos y lignina; almidón resistente, oligosacaridos (fructo y galacto olisacaridos, α -galactosidos), y disponibilidad de compuestos nitrogenados, etc. (Inglyst *et al.*, 1987; Nagadi *et al.*, 2000),

Con respecto al tiempo de incubación; trabajos de nutrición humana utilizan un tiempo de incubación de 24horas, debido a que es el transito promedio en el intestino grueso de los humanos (Metcalf *et al.*, 1987 citado por Coles *et al.*, 2005); El tiempo de residencia de la digesta en cerdos en el intestino grueso es de (20 – 38 horas), y en él ocurre una considerable absorción neta de agua (Jensen y Jørgensen, 1994). Aunque Monsma y Marlett (1996) argumentó que 96 horas *in vitro* es necesario para la fermentación de carbohidratos, y Ruiz, 2005 concluye que la fermentación para forrajes se debe realizar durante 144 horas debido a que en este tiempo se estabiliza la curva de producción de gas, se resalta que en este trabajo hubo mayor actividad microbiana a las 30 horas, parece ser que la flora microbiana pierde actividad y supervivencia durante el tiempo.

La producción de gas en el tiempo 30horas simula el periodo de transito de digesta en el intestino grueso del cerdo, *C. argentea*, *X. saggitifolium*, *L. purpurues*, *T. soya*, *V. unguiculata* y *C. brasiliensis* (99%, 98%, 96%, 95%, 85% y 82% respectivamente) alcanzan un valor \geq a 80% de la producción de gas total. En cambio, *D. velutinum* y *S. guianensis* solo alcanzó a producir en este tiempo (74 y 64% respectivamente) del potencial que tiene. figura 10.

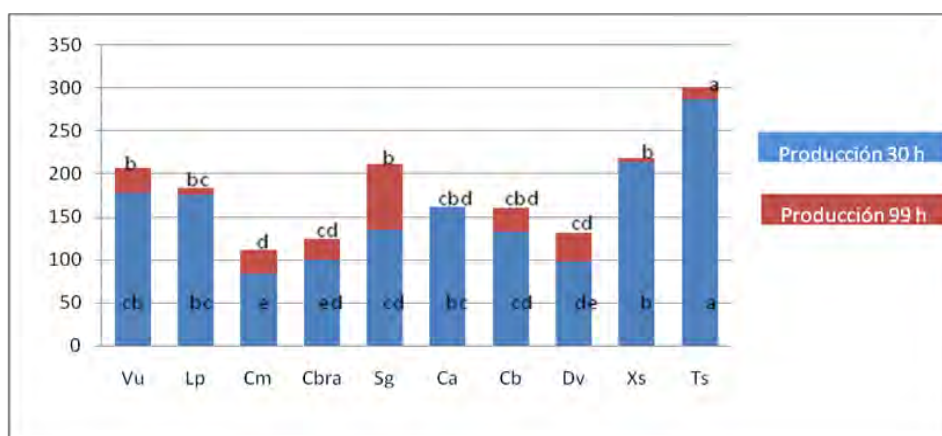


Figura 10 Producción de gas total en 30 y 99 horas de incubación de forrajes y torta de soya

4.4.3. Producción de Ácidos Grasos Volátiles (AGV)

La fibra dietética es fermentada por microorganismos, los cuales producen ácidos grasos de cadena corta que son absorbidos y metabolizados por el animal (McBurney y Sauer, 1993). En cerdos el intestino grueso es el mayor sitio de producción de ácidos grasos de cadena corta (McBurney y Sauer, 1993; Jensen y Jørgensen, 1994)

El principal sustrato energético para la fermentación microbiana son los carbohidratos, con sus productos finales: ácido láctico, ácidos grasos de cadena corta (acético, propiónico y butírico) y varios gases (hidrógeno, dióxido de carbono, metano). El ácido láctico es el principal ácido orgánico presente en la digesta del estómago y el intestino delgado, mientras que los ácidos grasos de cadena corta predominan en el intestino grueso (Bach *et al.*, 1991). La única forma de energía disponible para el animal proveniente de la fermentación intestinal son los ácidos grasos de cadena corta producidos por la microbiota (Christensen *et al.*, 1999).

Respecto a la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) tanto para 30h como 99h de incubación, se encontraron diferencias estadísticamente significativa entre los follajes y la T. soya, siendo esta última la de mayor producción para el total de AGV evaluados (Tabla 29), el valor total de producción de AGV para los forrajes estuvo representado por 66,7% de Acido Acético, 24,4% de Acido propionico y 9,0% de Acido butírico para 30horas y 53,1% Acido Acético, 18,7% Acido propiónico, 7,4% Acido butírico y 20,9% de otros ácidos grasos volátiles en las 99 horas. En el tiempo 30horas se conserva la proporción de AGV que se presenta en rumiantes. Se puede observar que a mayor tiempo de inoculación disminuye la proporción de acético y propionico, respecto a esta concentración, Rosero, 2005, indica que el acetato es menos concentrado cuando el tiempo de fermentación es de 144h. En cambio el butirato no se ve afectado por el tiempo de fermentación, al compararlo con tiempo de 12h.

La especie forrajera que estuvo entre los valores menores de producción de AGV fue *L. purpureus*, para 30h, sin presentar diferencias estadísticas con *C. molle*, *C. brasilianum*, *S. guianensis*, *C. brasiliensis* y *D. velutinum* (32,6 – 36,6 mmol/l). Mientras para el tiempo de incubación 99 horas *C. argentea* estuvo entre los valores menores de producción de AGV.

Entre la producción de gas y AGV hay una correlación positiva de ($r=0,76$) para las 30h y ($r=0,62$) para 99 h de incubación. Franklin *et al.*, (2002) establecieron que el incremento de la concentración de AGV coincide con la actividad microbiana. Sin embargo, este punto puede variar de acuerdo al tipo de sustrato, según estudios realizados con sustratos fibrosos se ha encontrado que en 24h de incubación, se presenta una correlación positiva entre la producción de gas y la concentración total de ácidos grasos volátiles (Getachew *et al.*, 2004).

La producción total de AGV en los forrajes oscilaron entre 31,2 – 44,68mmol/l, en 30 horas y 52,67 – 68,54mmol/l valores menores a los reportados por Dihigo *et al.*, 2004, quienes encontraron valores entre 90,21 – 145,35, el valor obtenido para *V. unguiculata* fue 27% menor al encontrado por anteriores autores quienes trabajaron con heces de conejo como fuente de inóculo, estos valores mayores pueden deberse a la población bacteriana presente en el inóculo de conejo, más acostumbrada a productos fibrosos, altos en fibra insoluble. Álvarez, 2009 encontró para *M. alba* producción total gas 64,5 mmol/l.

Entre los AGV, el acético fue el de mayor proporción, las especies forrajeras tuvieron un valor entre 21,86 – 30,30mmol/l, en las 30 horas y 30,50 – 38 mmol/l para las 99 horas destacándose las especies de mayor producción *V. unguiculata* y el *X. saggitifolium* para cada uno de los tiempos respectivamente.

La diferencia entre la producción de ácido acético de la torta de soya con respecto a los forrajes (42,1; 30,50 – 38 mmol/l), probablemente es debida a la disponibilidad de polisacáridos solubles, razón que está de acuerdo con Wang *et al.*, (2003) quienes afirman que Los polisacáridos solubles de la pared celular son más estimulantes para la formación de ácido acético, seguramente porque estos tipos de polisacáridos son fácilmente disponibles para la microflora que los carbohidratos insolubles.

Con respecto al tiempo de fermentación y producción de AGV, estudios realizados por Atawi *et al.*, (2005) afirman que entre más lenta sea la fermentación, la eficiencia en la formación de ATP puede ser maximizada para convertir el piruvato a Acetil fosfato en lugar de convertirlo a lactato, esto podría permitir mayor formación de acetato.

La producción de propiónico a las 30horas fue de 7,84 - 10,63 mmol/l, a las 99 horas incremento de 10,36 – 14,10mmol/l valores superiores fueron encontrados con *M. alba* 16,45mmol/l. por 144 h de incubación, Álvarez, 2009 y menores para *L. dulciss* 6,3mmol/l, la producción de *T. gigantea* se acercó al valor mínimo del rango expuesto en este trabajo 10,2mmol/l.(Dihigo *et al.*, 2004)

El ácido butírico fue el de menor proporción, entre los forrajes fue de 2,62-4,04mmol/l en 30horas y 3,5–5,2 mmol/l en 99horas; este ácido graso radica su importancia en la salud gastrointestinal del animal. La concentración de butirato favorece la salud de los cerdos ya que ha sido reportado como un recurso energético para los colonocitos e inhibe la apoptosis de las células epiteliales del colon (Smiricky-Tjardes *et al.*, 2003; Campbell *et al.*, 1997; Claus *et al.*, 2003). Además el n-butirato se lo ha considerado como un potente antiproliferativo de diferentes agentes patógenos (Piva *et al.*, 2002 citado por Rosero, 2005).

En el tiempo 99 horas del total de ácidos grasos que se produce de la fermentación de forrajes el 20,9% está representado por ácido isobutírico.

4.5. Perfil electroforético de las proteínas solubles de forrajes leguminosas.

Los patrones electroforéticos por SDS-PAGE de las fracciones proteicas de los forrajes de leguminosas y el control torta de soya son presentados en las Figuras 11 y 12. El análisis cualitativo muestra variaciones en el número e intensidad de las bandas entre los forrajes y la torta de soya. En general, En el follaje de leguminosas se observa 2 bandas con mayor intensidad que probablemente sea la Rubisco proteína con mayor concentración en tejidos verdes y con peso 55kda y proteínas involucradas en procesos de reserva llamadas proteínas Vegetativas de almacenamiento foliares (VSP) que se encuentran en hojas, el tamaño de estas proteínas oscila entre 27-47KDa y en peso seco tienen un porcentaje del 6-15%, estas proteínas son muy ricas en aminoácidos esenciales, como valina, lisina, prolina, metionina, triptofano, etc, por otro lado, se puede observar que la torta de soya tiene un patrón diferente a los forrajes. En el caso de Torta de Soya el perfil electroforético fue diferente a los forrajes evaluados.

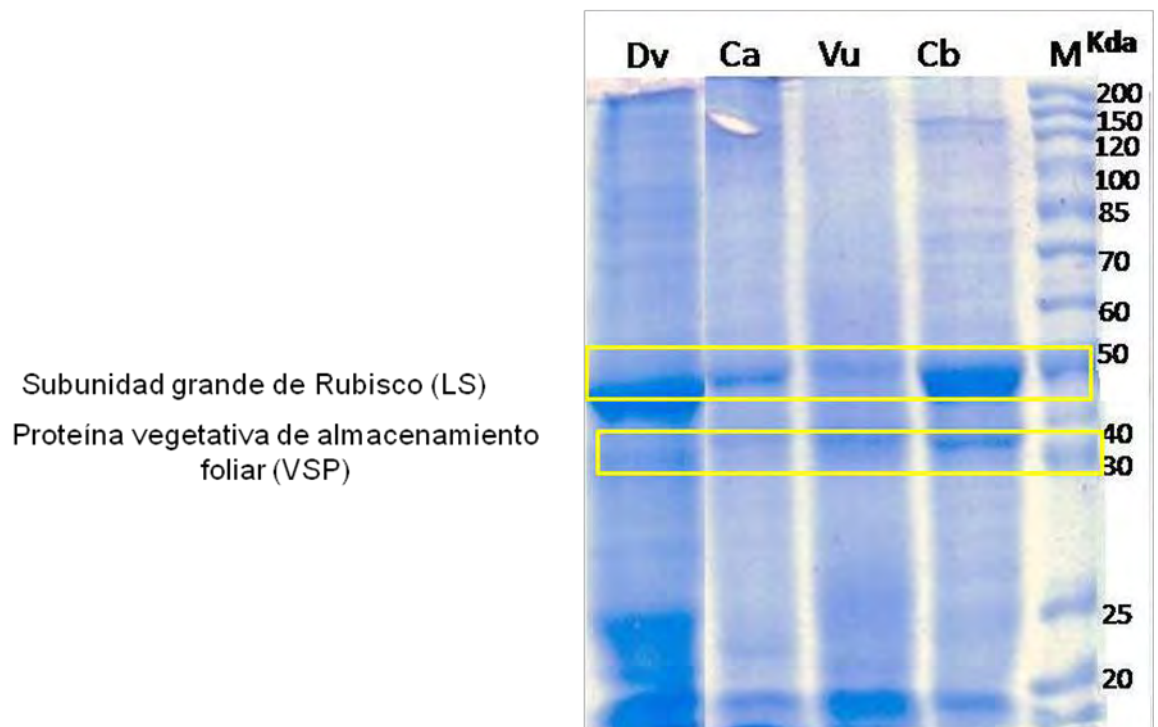


Figura 11 Patrón electroforético (SDS-PAGE) de las proteínas solubles del follaje de leguminosas. Marcador de peso molecular (M) se indican en el extremo derecho

Dv: Desmodium velutinum, **Ca:** Cratylia argentea, **Vu:** Vigna unguiculata, **Cb:** Canavalia brasiliensis

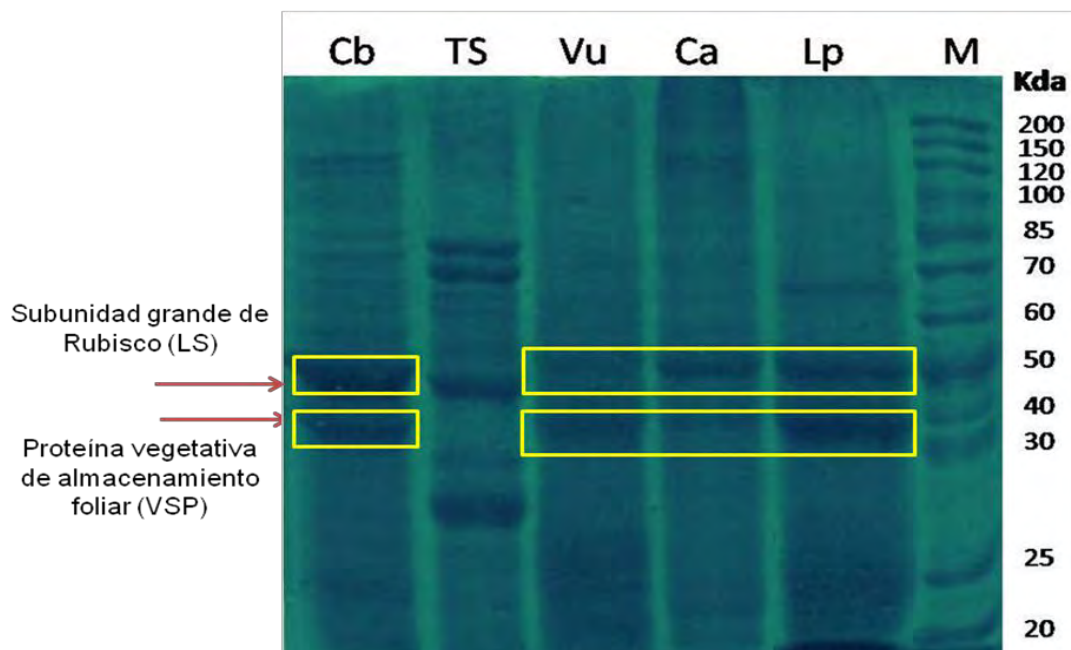


Figura 12 Patrón electroforético (SDS-PAGE) de las proteínas solubles del follaje de leguminosas y torta de soya. Marcador de peso molecular (M) se indican en el extremo derecho

Cb: Canavalia brasiliensis, **TS:** Torta de Soya, **Vu:** Vigna unguiculata, **Ca:** Cratylia argentea, **Lp:** Lablab purpureus

4.6. Correlación de las variables evaluadas

En la tabla 30 se observa la matriz de correlación entre 22 variables evaluadas, se puede observar correlaciones positivas como negativas especialmente con el contenido de FDN, Celulosa y cenizas.

Tabla 30. Matriz de correlación de variables

		PC	Cen	FDN	LDA	Cel	Ener	NDS	DIMS	DEB	DPROT	AGV30	AGV 99	Pgas 30	Pgas 99	Acet 30	Aceti 99	Prop 30	Prop 99	But 30	But 99	Laten	PmaxT		
Composición química	PC	Coef Cor	1	-0,5125	-0,7161	-0,4815	0,68056	0,62496	0,79824	0,67726	0,63836	0,81677	0,73673	0,57335	0,71894	0,6277	0,65133	0,48404	0,83813	0,6778	0,81899	0,49149	-0,0287	-0,0028	
		Prob > r		0,1299	0,0198	0,1589	0,0303	0,0534	0,0056	0,0314	0,0643	0,0133	0,0151	0,0831	0,0191	0,052	0,0413	0,1563	0,0025	0,0313	0,0038	0,1491	0,9373	0,9933	
	Cen	Coef Cor		1	0,05476	0,3921	-0,1428	-0,6936	-0,2588	-0,02	0,61847	-0,89469	0,44685	-0,3672	-0,2669	-0,4079	-0,3561	-0,1743	-0,5583	-0,49966	-0,5822	-0,4091	0,53713	0,05603	
		Prob > r			0,8806	0,2624	0,6939	0,0261	0,4703	0,9564	0,0758	0,0027	0,1954	0,2966	0,4558	0,242	0,3125	0,6302	0,0935	0,1414	0,0774	0,2405	0,1094	0,8778	
	FDN	Coef Cor			1	0,40218	0,93522	-0,1369	-0,9787	-0,7141	-0,6373	-0,23106	-0,5134	-0,6899	-0,6693	-0,5449	-0,467	-0,7389	-0,5859	-0,61524	-0,485	-0,439	-0,2376	0,10318	
		Prob > r				0,2493	< 0,001	0,7062	< 0,001	0,0204	0,0649	0,5819	0,1291	0,0272	0,0343	0,1034	0,1736	0,0146	0,0751	0,0583	0,1554	0,2043	0,5086	0,7767	
	LDA	Coef Cor				1	0,31847	0,03091	0,46976	-0,481	-0,3376	0,28702	-0,3476	-0,0605	-0,1887	-0,2834	-0,2978	-0,0372	-0,4197	-0,16454	-0,3776	0,03361	0,12554	0,50068	
		Prob > r					0,3698	0,9325	0,1707	0,1593	0,3801	0,4907	0,3251	0,8682	0,6017	0,4275	0,4034	0,9188	0,2273	0,6497	0,2821	0,9266	0,7297	0,1405	
	Cel	Coef Cor					1	-0,124	-0,8753	-0,6298	-0,8169	-0,25487	-0,4882	-0,4632	-0,5823	0,39439	-0,4584	-0,5254	-0,5286	-0,42007	-0,4563	-0,2526	-0,2367	0,10982	
		Prob > r						0,7328	0,0009	0,003	0,0072	0,5424	0,1522	0,1776	0,0773	0,2594	0,1827	0,1189	0,1163	0,2268	0,185	0,4813	0,5103	0,7626	
Ener	Coef Cor						1	0,27516	0,29289	-0,1713	0,84977	0,68586	0,9267	0,52945	0,47227	0,62864	0,14634	0,7323	0,44156	0,76717	0,33633	-0,4041	0,41622		
	Prob > r							0,4416	0,4115	0,6594	0,0075	0,0286	0,4119	0,1155	0,1681	0,0516	0,6867	0,016	0,2014	0,0096	0,342	0,2468	0,2315		
NDS	Coef Cor							1	0,69487	0,59827	0,40973	0,58863	0,74302	0,70243	0,61106	0,52507	0,75071	0,68172	0,69802	0,58902	0,50892	0,1193	-0,0883		
	Prob > r								0,0257	0,0888	0,3134	0,0734	0,0138	0,0235	0,0605	0,1191	0,0123	0,0299	0,0248	0,0732	0,133	0,7427	0,8084		
Digestibilidad prececal	DIMS	Coef Cor							1	0,98211	0,61607	0,68403	0,19181	0,46238	0,33961	0,68236	0,16919	0,66135	0,27946	0,64859	0,15988	0,0564	-0,3251		
		Prob > r								< 0,001	0,1039	0,0292	0,5955	0,1785	0,337	0,0297	0,6403	0,0373	0,4342	0,0425	0,6591	0,877	0,3594		
	DEB	Coef Cor								1	0,03418	0,49515	-0,2272	0,10041	-0,1456	0,49034	-0,1634	0,49214	-0,19386	0,45497	-0,2068	0,10889	-0,4713		
		Prob > r										0,942	0,1753	0,5566	0,7972	0,7086	0,1802	0,6744	0,1784	0,6172	0,2185	0,5935	0,7804	0,2003	
DPROT	Coef Cor									1	0,6051	0,3391	0,32166	0,32375	0,50614	0,08472	0,70482	0,54011	0,76492	0,46862	-0,6079	0,4935			
	Prob > r										0,112	0,4112	0,4372	0,4341	0,2006	0,8419	0,0509	0,167	0,027	0,2415	0,1099	0,9076			
Fermentación cecal	AGV30	Coef Cor										1	0,47131	0,76769	0,73412	0,99004	0,39441	0,97585	0,64959	0,97306	0,48337	-0,1605	0,05025		
		Prob > r											0,1691	0,0095	0,0156	< 0,001	0,2594	< 0,001	0,0421	< 0,001	0,157	0,6578	0,8904		
	AGV 99	Coef Cor											1	0,63604	0,62443	0,41858	0,93917	0,54752	0,9436	0,48756	0,88828	0,09807	0,6888		
		Prob > r												0,0481	0,0536	0,2286	< 0,001	0,1014	< 0,001	0,1529	0,0006	0,7875	0,85		
	Pgas 30	Coef Cor												1	0,93596	0,73592	0,72988	0,80498	0,6357	0,71903	0,41262	0,28383	0,46207		
		Prob > r													< 0,001	0,0152	0,0166	0,005	0,0482	0,0191	0,236	0,4262	0,1788		
	Pgas 99	Coef Cor													1	0,70698	0,7156	0,76377	0,62627	0,69246	0,44102	0,27655	0,40595		
		Prob > r														0,0222	0,022	0,0101	0,0527	0,0265	0,202	0,4392	0,2444		
	Acet 30	Coef Cor															1	0,3552	0,93605	0,59578	0,93749	0,45424	-0,1157	0,03112	
		Prob > r																0,3138	< 0,001	0,0691	< 0,001	0,1872	0,7502	0,932	
	Aceti 99	Coef Cor																1	0,46294	0,80962	0,36277	0,71224	0,32537	0,23256	
		Prob > r																	0,1779	0,0045	0,3029	0,0208	0,3589	0,5179	
	Prop 30	Coef Cor																		1	0,7116	0,98257	0,50628	-0,2005	0,08554
		Prob > r																			0,0211	< 0,001	0,1354	0,5786	0,8142
Prop 99	Coef Cor																			1	0,68901	0,92658	-0,0985	-0,0277	
	Prob > r																				0,0275	0,0001	0,7866	0,9394	
But 30	Coef Cor																				1	0,52552	-0,2686	0,03275	
	Prob > r																					0,1188	0,453	0,9284	
But 99	Coef Cor																					1	-0,0271	-0,1495	
	Prob > r																						0,9407	0,6801	
Laten	Coef Cor																						1	0,1425	
	Prob > r																							0,6945	
PmaxT	Coef Cor																							1	
	Prob > r																								1

PC: Proteína cruda; Cen: Cenizas; FDN: Fibra detergente neutra; LDA: Lignina detergente ácido; Cel: Celulosa; Ener: Energía Bruta; NDS: Fracción soluble; DMS: Digestibilidad in vitro de la materia seca; DPROT: Digestibilidad in vitro de la proteína; AGV30: Ácidos grasos totales 30h incubación; AGV99: Ácidos grasos totales 99 h incubación; Pgas 30: Producción total de gas 30 h incubación; Pgas99: Producción de gas 99 h incubación; Acet 30: Ácido acético 30h incubación; Acet 99: Acético 99h incubación; Prop 30: Propionico 30horas incubación; Prop 99: Propionico 99 h incubación; But 30: Butírico 30h incubación; But 99h: Butírico 99 h incubación; Laten: Periodo de latencia; PmaxT: Tiempo medio de la asíntota para la mayor producción de gas.

En las especies forrajeras y torta de soya, varios parámetros de la composición química influyen en la digestibilidad prececal de monogástricos, así, para la digestibilidad de la materia seca influye en forma negativa los contenidos de FDN y celulosa; la digestibilidad de la proteína también se ve afectada en forma negativa principalmente por el contenido de cenizas. Respecto a la fermentación cecal *in vitro*, los parámetros, producción de AGV totales y ácido propiónico 99 horas de incubación, está correlacionado levemente en forma inversa con el contenido de FDN. (Tabla 30)

En cambio el contenido de energía y NDS está influido en forma positiva con la producción de AGV totales en un tiempo de incubación de 99 horas, producción de ácido propionico y butírico a las 30 horas de incubación. El contenido NDS además influye en la producción de AGV totales 30h, acético y propionico a las 99 horas de incubación.

Con respecto al nivel prececal, la DIVMS está estrechamente correlacionada con la digestibilidad de la energía, la digestibilidad *in vitro* de los forrajes en este tramo, influye también en la fermentación cecal, forrajes con buena digestibilidad *in vitro* de la proteína puede tener mayor producción de ácido butírico y propionico a las 30 horas de incubación, a la vez posiblemente pueda disminuir la latencia del sustrato. De igual forma con correlaciones más bajas (0,68 y 0,69) una alta digestibilidad *in vitro* de la materia seca puede generar una mayor producción de ácido acético y propionico a las 30 horas o viceversa.

La producción de gas dada a las 30 horas de inoculación, tiene una alta correlación con la producción a las 99 horas, por otro lado se relaciona con la producción de ácido propionico y butirico a las 30 horas y acético a las 99 horas. A su vez, una alta producción de ácido propiónico puede aumentar la producción de ácido butírico.

La información nutricional brindada por las 21 variables, analizadas previamente a través de la matriz de correlación, permite tener en cuenta variables relacionadas con composición química, digestibilidad prececal y fermentación a nivel cecal.

Al iniciar un análisis multivariado, los valores de la matriz de correlación de pearson $|r|$ más altos fueron $r > 0,95$, representado por las variables cenizas y tiempo medio de la asíntota para la mayor producción de gas.

Por el alto número de correlaciones entre variables que resultan interesantes en el estudio, se realizó el análisis de componentes principales para seleccionar las variables relevantes en la evaluación nutricional, se distingue 3 variables sintéticas (componentes principales) 1. Componente "Contenido de FDN y Fracción soluble de las forrajeras 2. Componente "Digestibilidad prececal materia seca y energía. Componente 3 "Celulosa latencia y producción de ácido butirico"

Una vez identificadas las variables más asociadas en un análisis de componentes principales, se formaron clusters, donde el coeficiente de

determinación (R^2) manifiesta que el 84,3% de la variación encontrada, es explicada por el modelo estadístico utilizado. Los clusters CL indicaron 4 agrupaciones (Figura 13)

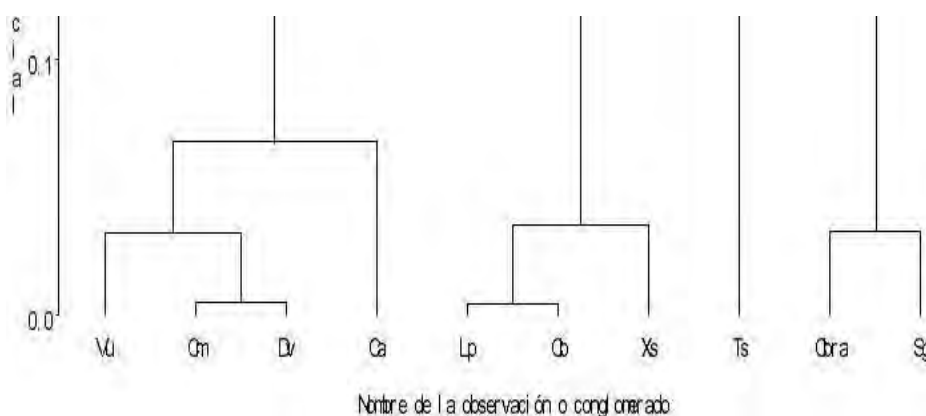


Figura 13 Cluster Especies forrajeras y Torta de soya

CL 1: *C. molle*, *D. velutinum*, *V. unguiculata* y *C. argentea*

Las especies *C. molle* y *D. velutinum* fueron especies de bajas producciones contrario a *V. unguiculata* y *C. argentea* en la parte cecal. Este grupo, excepto la *V. unguiculata* en digestibilidad de la proteína tuvieron una digestibilidad *in vitro* de la materia seca y de la proteína por encima del 60%. Alta producción de AGV por encima de 52mmol/l, a las 30 horas de fermentación alcanzaron 69% de producción de AGV totales de su potencial. Especies con un contenido de proteína 185-241g/KgMS, FDN 316-506 g/KgMS y celulosa 130-211 g/KgMS. El contenido y la composición de la fibra le confiere el comportamiento a nivel prececal, los valores más bajos de digestibilidad *in vitro* de la proteína de *V. unguiculata* posiblemente esta relacionado con la asociación de fibra al contenido proteico y metoxilación y ramificación de la fibra que a la vez logra encapsular nitrógeno en la parte prececal y hacer disponible para la actividad microbiana y producción de gas.

CL 2: *L. purpureus*, *C. brasiliensis* y *X. saggitifolium*:

Agrupación de especies leguminosas y *X. saggitifolium* con un contenido de proteína de 216 – 236 g/Kg MS; FDN 311-347 g/Kg MS y celulosa 127-138g/Kg MS. Comportamiento prececal y cecal intermedio con una digestibilidad *in vitro* de materia seca de 48,6-61,8% y Digestibilidad de la proteína de 44,1 – 46,0%. En cuanto a la fermentación, las especies leguminosas tuvieron una producción de gas total de 160 – 183 ml, el 80% de la producción fue alcanzada a las 30 horas de fermentación, y producción total de AGV más bajas de todas las demás especies 31,2 – 33,9 mmol/l. *X. saggitifolium* tuvo similar comportamiento en la composición química (Proteína, FDN y Celulosa), digestibilidad prececal pero

fue una de las especies de mayor producción de gas 218,7ml y AGV totales 68,5mmol/l.

Al parecer la cantidad y composición de fibra insoluble presente en las especies de este grupo, confiere una digestibilidad prececal y fermentación cecal más baja que las leguminosas presentes en el cluster 1. *X. saggitifolium* no es una especie leguminosa lo que hace la diferencia en este cluster.

CL 3 *C. brasilianum* y *S. guianensis*; especies castigadas por el alto contenido de celulosa y FDN (243-297 g/KgMS y 470-578 g/KgMS respectivamente) que afecta principalmente la DIVMS, baja producción de gas y AGV totales a las 30horas, su potencial de producción de gas (99 horas), es alcanzado hasta un 79% a las 30horas de fermentación. Sin embargo el contenido bajo de cenizas (87-104 g/KgMS) les permite ser especies potenciales para identificar digestibilidad de proteína.

CL 4: T. soya

Especie no forrajera, que sobresalió tanto a nivel prececal, cecal como en la composición química.

5. CONCLUSIONES

Las especies forrajeras con menor contenido de FDN (316-347 g/KgMS) presentaron valores superiores en la digestibilidad de la materia seca como *C. molle* y *V. unguiculata* y *X. saggitifolium* (70,8; 69,6 y 61,8% respectivamente) y aquellas que mostraron valores menores de cenizas presentaron digestibilidad de la proteína alta como *C. molle*, *C. argentea* y *D. velutinum* (62,2; 61,4 y 59,7% respectivamente) . A nivel prececal la leguminosa de mejor comportamiento fue *C. molle*.

Las especies forrajeras promisorias para la alimentación de cerdos de acuerdo a su composición química, digestibilidad y fermentación *in vitro* son: Caupi (*V. unguiculata*); Centrosema (*C. molle*); Desmodium (*D. velutinum*) y Cratylia (*C. argentea*). Por el contrario las especies *S. guianensis* y *C. brasilianum* presentaron bajas digestibilidades *in vitro* de la materia seca, energía.

A las 99 horas de fermentación, la mayor producción de gas, ácidos grasos volátiles totales y ácido acético, la tuvieron *X. saggitifolium* y *V. unguiculata*, (207,5 – 218,7 ml; 66,1-68,5; 36-38mmol/l respectivamente) al parecer a nivel cecal estas especies siguen presentando fracciones solubles (carbohidratos y nitrógeno) disponible para la supervivencia y actividad microbiana de la flora cecal del cerdo. Especie con alto contenido de FDN *C. brasilianum* presentó menor producción de ácidos grasos volátiles totales al tiempo 30horas de fermentación.

En pruebas de fermentación *in vitro* en monogástricos a las 30horas de incubación para las especies *C. argentea*, *L. purpureus*, *X. saggitifolium* y *V. unguiculata*, se obtiene el 94% del potencial de la producción total de gas y para *C. argentea*, *V. unguiculata*, *D. velutinum* y *C. molle* alcanzaron el el 69% de la producción total de AGV

La composición química, la cantidad y fuente de la fibra dietética, azúcares constituyentes y el contenido de nitrógeno del sustrato que llega al proceso de fermentación, son los principales factores que afectan la utilización de energía de las bacterias para la producción de gas y ácidos grasos de cadena corta en el colon de los cerdos.

Existe dos clases de proteínas que son comunes en los forrajes de leguminosas como subunidades grandes de rubisco (LS) y Proteína vegetativa de almacenamiento foliar (VSP) que podría estar involucrada en procesos de reserva y que por su alto contenido en aminoácidos esenciales le da un alto valor agregado al contenido y composición aminoacidica, lo cual los hace viable para la alimentación de monogástricos y una opción económica para pequeños productores.

6. RECOMENDACIONES

Teniendo presente los resultados obtenidos *in vitro* sobre los follajes de leguminosas más promisorias, aquellas que presentaron mejores valores de digestibilidad prececal y fermentación cecal deben ser incluidas para realizar pruebas *in vivo* y determinar parámetros productivos (ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia) así como pruebas de digestibilidad

Realizar caracterización más amplia de la fracción fibrosa y factores antinutricionales presentes en los follajes de leguminosas.

Desarrollar secuenciación de proteínas para identificar perfil proteico de follajes de leguminosas

BIBLIOGRAFIA

AGUIRRE, P. 2009. Caracterización nutricional del grano de caupi *Vigna unguiculata* en ratas. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira.

AIPLE, K.P.; STEINGASS, H. y MENKE, K.H. 1992. Suitability of a buffered faecal suspension as the inoculum in the Hohenheim gas test. En: Journal of Animal Nutrition. Vol. 67; pag. 57-66.

AKINOLA, J.O y AFOLAYAN, RA. 1991. Effects of storage, testa colour and scarification method on seed germination of *Desmodium velutinum* (Wild) DC. In: Seed Science and Technology. Switzerland. Proceedings of the international seed testing Association. 19 Pag, 159-166.

ALLEN, J Y LY, J. 2007. Una aproximación a la predicción del valor nutritivo del follaje de *Leucaena* para cerdos determinado por procedimiento in situ e in vitro. Revista Computadorizada de producción porcina. Volumen 14 Numero 1. Pag 65-69

ARGEL, P. J Y LASCANO, C.E; 2000. *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze: Una nueva leguminosa arbustiva para suelos ácidos en zonas húmedas tropicales. Pasturas tropicales Vol 20 No 1 pag. 37-42.

ARGEL, P.J. y MAASS, B.L. 1994. Evaluación y adaptación de leguminosas arbustivas en suelos ácidos infértiles de América tropical. Programa de Forrajes tropicales. Centro Internacional de Agricultura Tropical. En: Nitrogen Fixing Trees for acid Soils. Cali – Colombia. Pag. 215-224

ARGEL, P; GIRALDO, G; PETERS, M; LASCANO, C. (2002). Producción artesanal de semillas de *Cratylia* (*Cratylia argentea*). Acciones CIAT 18515 y 18668. http://webapp.ciat.cgiar.org/forrajes/pdf/produccion_semillas_cratylia.pdf. enero 2010

ARSENEMA, J. 2009. Nacedero (*Trichanthera gigantea*) forrajera con alto valor proteico. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá. Folleto Técnico. Panamá. 13p.

ASARE, E. O. ; SHEHU, Y . y AGISHI, E.A. 1984. Preliminary studies on indigenous species for dry season grazing in the northern Guinea savanna zone of Nigeria. In Tropical Grasslands. 18:3. pag 148-152.

BELMAR, R Y NAVA, R. 1999. Factores antinutricionales en la alimentación de animales monogástricos. Alimentación no convencional para monogástricos en el trópico. 51-61p

BENÍTEZ, W 2000. Los cerdos criollos en América Latina. En: Los cerdos locales en los sistemas de producción tradicionales. Estudio FAO producción y sanidad animal. Pag 148-191

BOISEN, S Y FERNANDEZ, J.A. 1995. Prediction of the apparent ileal digestibility of protein and amino acid in feedstuffs and feed mixtures for pigs by *in vitro* analyses. Animal Feed Science and Technology pag 29-43

BOISEN, S; Y EGGUM, O. 1991. Critical evaluation of *in vitro* methods for estimating digestibility in simple-stomach animals. Nutrition Research reviews 4. pag 141-162

BOISEN, S. y FERNÁNDEZ, J.A. 1997. Prediction of the total tract digestibility of energy in feedstuffs and pig diets by *in vitro* analyses. En: Animal Feed Science Technology. Vol. 68; pag. 277-286

BOSCHINI, C; DORMOND, y CASTRO, A. 1998. Producción de biomasa de la morera (*Morus alba*) en la meseta central de Costa Rica. Agronomía Mesoamericana 9(2): pag. 31-40.

BOTERO, M 2004. Valor nutricional de forrajes arbustivos para cerdas adultas. Tesis. Maestría en Ciencia Agraria con énfasis en Producción animal tropical. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira.

BOUDRY, C et al. 2003. Interest of *in vitro* pre-digestion to estimate fermentability of feedstuffs in pig large intestine. En: 9th International Symposium on Digestive Physiology in Pigs. Banff. Canada. Vol. 2; pag 49-51.

BOUDRY, C et al. 2004. Mise au point d'une méthode de détermination *in vitro* du taux de fermentation des fibres dans le gros intestin du porc. En: Journées Recherche Porcine. Vol. 36

BUBARNO, E y TROCHEZ, L. 2010. Respuesta a diferentes edades de rebrote de botón de oro *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. Trabajo de grado para optar por el título de Ingeniero Agropecuario. Universidad del Cauca. Colombia.

CANO, R. CARULLA J, LASCANO C. 1994. Métodos de conservación de muestras de forraje de leguminosas tropicales y su efecto en el nivel y en la actividad biológica de los taninos. Pasturas Tropicales, Vo, 16 No 1. Pag 2-7.

CASTRO, C.E., Y AVILA, M.L. 1993. Control de calidad de insumos y dietas acuícolas: Determinación de la Digestibilidad de la Proteína por Métodos *In vitro*. Deposito de documentos de la FAO. Fundación Chile. Disponible en internet www.fao.org/docrep/field/003/AB482S/AB482S07. enero 2010

CELIZ, S. 2002. El mito de la proteína- Tercera parte. HLife. Healthy living redefined. Disponible en internet: <http://hlifemedia.com/2010/02/el-mito-de-proteina-3-parte/> Enero 2010.

CHAMARRO, D. 2000. Importancia de la proteína en la nutrición de rumiantes con énfasis en la utilización de proteínas de especies arbóreas. Corpoica. Disponible en: <http://www.softwareganadero.com/Articulos/Importancia%20de%20la%20prote%C3%ADna%20en%20la%20nutrici%C3%B3n%20de%20rumiantes.pdf>. Enero 2010

CHO, S; DEVRIES, J; PROSKY, L. 1997. Dietary Fiber analysis and Applications. Gaithersburg, MD: AOAC.

CIAT REIN VAN DER HOEK.2009. Boletín electrónico No 4 . Forraje autóctono ofrece esperanza para América Central. Innovaciones y Retos. ISSN 2027-1336 disponible en internet http://webapp.ciat.cgiar.org/es/sala_not/boletin_electronico/boletin_04/boletin04_historia3.htm

CONE, J.; VAN GELDER, A.H. y BACHMANN, H. 2000. Influence of inoculo source, dilution and storage of rumen fluid on gas production profiles. An EAAP Satellite Symposium: Gas production: Fermentation kinetics for feed evaluation and assess microbial activity. Wageningen International Conference Centre. Wageningen. The Netherlands.

COOK, B.; PENGELLY, B.; BROWN, S.; DONNELLY, J.; EAGLES, D.; FRANCO, A.; HANSON, J.; MULLEN, B.; PARTRIDGE, I.; PETERS, M. Y SCHULTZE-KRAFT, R. 2005. Tropical Forages, An interactive selection tool (CD-ROM). CSIRO Sustainable Ecosystems (CSIRO), Department of Primary Industries and Fisheries (DPI&F Queensland), Centro Internacional de Agric. Tropical (CIAT) and Int. Livestock Research Inst. (ILRI).

CORREA, H. 2001. Suministro de suplementos concentrados durante el periodo de transición. Materias primas. Documento presentado en el curso de educación continuada: Nutrición de la vaca en transición. Universidad Nacional, Sede Medellin. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

CORTÉS, J. MORENO, B. PABÓN, M. AVILA, P. KREUZER, M. HESS, H. CARULLA, J. 2009. Effects of purified condensed tannins extracted from Calliandra, Flemingia and Leucaena on ruminal and postruminal degradation of soybean meal as estimated *in vitro*. Animal Feed Science and Technology. 151. P.194-204

DAMELYS, M; SANABRIA, V, FARIÑAS J; MANRIQUE U, FLORES Z Y REINA Y. 1995. Adaptabilidad de gramíneas y leguminosas forrajeras en un paisaje de mesa del estado Bolivar, Venezuela. Zootecnia Tropical Vol 13 (1). pag 63-76

DAVIES, Z; MASON, D; BROOKS, A; GRIFFITH, G; MERRY, R Y THEODOROU, M. 2000. An automated system for measuring gas production from forages inoculated with rumen fluid and its use in determining the effect of enzymes on grass silage. Animal feed Science and Technology. 83. 205-221.

DAZA, N. 2002. Manual básico de porcicultura. Asociación Colombiana de Porcicultores. Fondo Nacional de Porcicultura. Colombia. P. 67

DE JUAN, J; DE SANTA J; BOTELLA, O. 1992. Dinámica del crecimiento y desarrollo del girasol oleaginoso. 190 pag disponible en http://books.google.com.co/books?id=d14fj3mbfkwc&pg=pa199&lpg=pa199&dq=rubisco+proteina+de+hojas&source=bl&ots=e2unykkczp&sig=fexqth4h1jdygdrmmk2xkxcyilq&hl=es&ei=hkf8s_dyh8t38ab03fhsbq&sa=x&oi=book_result&ct=result&resnum=4&ved=0cciq6aewaw#v=onepage&q&f=false. Enero 2010.

DEAVILLE, E y GIVENS,D. 2001. Use of the automated gas production technique to determine the fermentation kinetics of carbohydrate fractions in maize silage. *Animal Feed Science and Technology* 93. 205-215p.

DEUVIE, L.O; BARJE, P.P; BAWA, O.W; EHOCHÉ, H.J; MAKUN, V.O; SEKONI, N.P; CHIEZEY, J.O; BALE, A.E; MALAU-ADULI, C.U OSUHOR, C.U; ALAWA, C.B. OKAIYETO, P.O; OLORUNJU, S.A. 2002. Evaluation of forage legume *Lablab purpureus* as a supplement for lactating bunaji cows. Development and field evaluation of animal feed supplementation packages. Proceedings of the final review meeting of an IAEA Technical Co-operation Regional AFRA Project organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture and held in Cairo, Egypt, 25–29 November 2000

DIAZ, M; PADILLA, C; GONZALEZ, A Y MORA C. 2002 Production and bromatological composition of vigna flour meals: forage, integral, and grain agric. *Téc.* Vol 62 No 2 Chillán apr. 2002.

DIERICK, N., VERVAEKE, I., DECUYPERE, J. Y HENDERICKX, K. 1985. Protein digestion in pig measured in vivo and in vitro. Proceedings of the 3rd International Seminar of Digestive Physiology in the Pig (A. Just, H. Jorgensen y J.A. Fernández, editores). Copenhagen, pag 329-332

DIHIGO, L.E 2004. Efecto de la fuente de alimentos fibrosos para conejos y el tiempo de incubación en la digestibilidad de la materia seca in vitro. *Revista cubana de Ciencia Agrícola*, Tomo 38 No 2.

DIHIGO, L.E; SAVON, L; ROSABAL, Y; 2004. Determinación de la digestibilidad in vitro de la materia seca y fibra neutro detergente de cinco plantas forrajera con la utilización del inoculo cecal de conejos. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, Tomo 38 No 3

DIHIGO, L; SAVON, L Y YANELIS, R. 2004. Determinación de la digestibilidad in vitro de la materia seca y fibra neutro detergente de cinco plantas forrajeras con la utilización del inoculo cecal de conejos. *Revista cubana de Ciencia Agrícola*, Tomo 38 No 3. 297-300.

DOMÍNGUEZ, H; MACÍAS, M; DÍAZ C; MARTÍNEZ, O; MARTÍN, G Y LY, J. 2004. Procesos digestivos en cerdos alimentados con follaje de morera (*Morus*

alba). Digestibilidad rectal de nutrientes y balance de N. Revista computadorizada de producción porcina. Volumen 11 Numero 3. Pag. 84- 96.

DOMÍNGUEZ. H.A; MACÍAS. M; DÍAZ. C; MARTÍNEZ. O; MARTÍN. G y Ly, J. 2004. Procesos digestivos en cerdos alimentados con follaje de morera (*Morus alba*).digestibilidad rectal de nutrientes y balance de N. Revista computadorizada de Producción Porcina. Volumen 11 No 3 2004.

DOUILLARD. 1985. Proteines de feuilles et rubisco. Protéines végétales. 2 eedition, revue et augmentée. Propriétés biochimiques et physiocochimiques des proteines vegetales. Pag 173-223

DUNG, N.N.X; MANH, L.H; UNDÉN, P; 2002. Tropical fibre sources for pigs-digestibility, digesta retention and estimation of fibre digestibility in vitro. Animal Feed Science and Technology 102 pag. 109-124.

ENCARNACIÓN. S. 2000 El proteoma, una herramienta para el análisis global del estado celular de organismos microbianos. Microbios En Linea. Capitulo 21. Asedado por internet <http://biblioweb.unam.mx/libros/microbios/index.html>. Enero 2010

FAO. Food And Agricultura Organization Of The Unite Nations. 2001. Disponible en internet: <http://www.fao.org/page/collection>.

FAOSTAT, 2009. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Disponible en internet <http://faostat.fao.org>

FIGUEROA, V. 1996. Producción porcina con cultivos tropicales y reciclaje de nutrientes. CIPAV. 155p

FONDEVILA, M. et al.2002 Microbial caecal fermentation in Iberic or Landrace pigs given acorn/sorghum or maize diets estimated *in vitro* using the gas production technique. En: Animal Feed Science and Technology. Vol. 102 pag . 93-107.

FONDEVILA, M.; NOGUEIRA F., J.C.M. y BARRIOS U., A. 2002. *In vitro* microbial fermentation and protein utilization of tropical forage legumes grown during the dry season. En: Animal Feed Science and Technology. Vol. 95; pag. 1-14.

FORD, B.J. 2000. The future of food. Thames % Hudson, Inc, New York. Pag 120

FRANCE, J. et al. 1993. A model to interpret gas accumulation profiles associated with *in vitro* degradation of ruminant feeds. En: J. theor. Biol. Vol. 163; pag. 99-111.

FUENTES, L; PEREZ,Y. 2006. Aplicación de técnicas biotecnológicas en *Stylosanthes guianensis* (Aubl) Sw., leguminosa forrajera promisoría para suelos infértiles. Monografía asedado en internet

<http://www.bibliociencias.cu/gsd/collect/libros/index/assoc/HASH0137.dir/doc.pdf>. Febrero 2010

GARCÍA, D; MEDINA, M; DOMÍNGUEZ, C; BALDIZÁN, A; HUMBRÍA, J; COVA, L. 2004. Evaluación química de especies no leguminosas con potencial forrajero en el estado Trujillo, Venezuela. *Zootecnia Tropical* 24(4) pag. 201-405.

GARCÍA, D; MEDINA, M; SOCA, M; MORTEJO, I. 2005. Toxicidad de las leguminosas forrajeras en la alimentación de los animales monogástricos. *Pastos y Forrajes* Vol 28 No 4. Pag 279-289.

GARCIA, D; WENCOMO, H; GONZALEZ, M; COVA, O. 2004. Caracterización de diez cultivares forrajeros de *Leucaena leucocephala* basada en la composición química y la degradabilidad ruminal. *Revista MVZ Córdoba* Vol 13 No 2 May/Agos. ISSN 0122-0268

GETACHEW, G. et al. 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. En: *Animal Feed Science and Technology*. Vol. 72; pag. 261-281

GOMEZ, M. 2002. Bore *Alocacia macrorrhiza* (linneo) Schott, una especie con potencial para la agroforestería pecuaria. Tres especies vegetales promisorias, *Nacedero Trichanthera gigantea*, *Boton de oro Tithonia diversifolia* y Bore *Alocacia macrorrhiza*. Cali (Colombia). Pag 13-25.

GOMEZ, M.. 2007. Una revisión sobre el Bore (*Alocasia macrorrhiza*). Fundación CIPAV. Cali. Colombia. Disponible en: http://www.engormix.com/una_revision_sobre_bore_s_articulos_1720_AGR.htm. enero 2010.

GONZÁLEZ, T.L., TÉLLEZ, V.A., SAMPEDRO, G.J., Y NAJERA, H. 2007. Las proteínas en la Nutrición. *Revista salud Pública y Nutrición*. Vol. 8, No. 2.

GRANITO, M., GUERRA, M., TORRES, A., Y GUINAND, J. 2004. Efecto del procesamiento sobre las propiedades funcionales de *Vigna Sinensis*. INCI. Caracas. Vol. 29. N°.9.

HERRERA, A; DPABLOS,A; Lopez, R; BENEZRA, M; RIOS, L. 2002. Degradabilidad y digestibilidad de la materia seca del forraje hidropónico de maíz (*Zea mays*). Respuesta animal en términos de consumo y ganancia de peso. *Revista Científica*. Universidad del Zulia. Agosto. Vol. XVII No 004. 372-379p.

HUGH, S; MULLET, J. 1990. Expression of two soybean vegetative storage protein genes during development and in response to water deficit, wounding, and jasmonic acid. *The plant cell* Vol 2. P 569-579.

JESEN, B Y JORGENSEN, H. 1994. Effect of dietary fiber on microbial activity and microbial gas production in various regions of the gastrointestinal tract of pigs. *Appl Environ Microbiol* 60, 1897-1904.

JORRIN, J; NAVARRO R; GOMEZ, J; MATEOS, D. 2004. Aplicación de la proteómica a la caracterización de procedencias de *Quercus ilex* subsp. *Ballota* (desf.)samp. Acta de la III reunión sobre Repoblaciones forestales. Cuaderno de Sociedad Española de ciencias forestales vol 17 pag 57-61

JORRIN-NOVO. J; MALDONADO. A; ECHEVARRÍA. S; VALLEDOR. L; CASTILLEJO. M; CURTO. M; VALERO. J; SGHAIR. B; DONOSO. G; REDONDO. I. 2009. *Journal of proteomics*. Volumen 72. Issue 3. Pag 286-314.

KADKADE, P; MICHEO, F Y LUJAN, C. 1972. Extracción y fraccionamiento de proteínas de las semillas de *Mucuna pruriens* Leguminosas de grano. Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos Alimenticios.. XVIII reunion annual. Managua Nicaragua. Marzo 6-10 1972. Disponible en: http://books.google.com.co/books?id=u3EOAQAIAAJ&pg=PA53&lpg=PA53&dq=albuminas+en+hojas&source=bl&ots=nXSRD3-jbM&sig=qux5VDdB2InFolkGqX5b5LeGGxs&hl=es&ei=o9gTTLu7KoScIgeqmb2pDQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=5&ved=0CCIQ6AEwBA#v=onepage&q&f=false. Enero 2010

KPRINSKI,J; KEONOUCHANH; COX K y STUR. 2008. Forage as high value productos developed to capture differentiated markets for smalholders. En report annual 2008

LAMASAL, B; KOEGEL, S y GUNASEKARAN. 2007. Some physicochemical and funtional propieties of alfalfa soluble leaf proteins. *Food Science and Technology*, Volumen 40, Issue 9 pag 1520-1526

LANGYNTUO, A.S., LOWENBERG-DEBOER, J., FAYE, M., LAMBERT, D., IBRO, G., MOUSSA, B., KERGNA, A., KUSHWAHA S., MUSA S., Y NTOUKAM, G. 2003. Cowpea supply and demand in West and Central Africa. *Field Crops Research* 82. Pag. 215-231.

LASCANO, C. 1995. Calidad nutritiva y utilización de *Cratylia argentea* en: Trabajo pesentado en el taller de *Cratylia* Brasileira, DF. Brasil. Pag 26

LASCANO, C.E; TEIZEL, J.K Y ENG PEI KONG. 1997. Valor nutritivo de *Centrosema* y Producción animal. Capitulo 11. Pag 343. Del libro *Centrosema: Biología, Agronomía y Utilización*. Schutze-Draft, R; Celments, R.J; Keller-Grein. Disponible en internet http://books.google.com.co/books?id=TCNluRNUt4YC&pg=PA496&lpg=PA496&dq=centrosema+pubescens&source=bl&ots=cU6tfygsmd&sig=8KB8wiUp8deyd17i7WOpt6mDs&hl=es&ei=zF6OS8WKKdGXtgmPlSmCw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=11&ved=0CCQQ6AEwCg#v=onepage&q=centrosema%20pubescens&f=false. Enero 2010

LE GOFF, G., VAN MILGEN, J. AND NOBLET, J. 2002. Influence of dietary fibre on digestive utilization and rate of passage in growing pigs, finishing pigs and adult sows. Anim. Sci. 74: pag 503-515.

LEMUS, A; L. H; LEMUS, O; V. E. 2004. Plantas de uso forrajero en el trópico cálido y templado de Colombia. Universidad de los Llanos Villavicencio, Colombia.

LETERME, P y ESTRADA F. 2006. Análisis de los alimentos y forrajes destinados a los animales. Notas de Laboratorio. Manual Laboratorio de Nutrición animal. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira.

LETERME, P., FROIDMOND, E., ROSSI, F., THEWIS, A 1998. The high water-holding capacity of pea inner fibres affect the ileal flow of endogenous amino acids in pigs, J Agris. Food. Chem. 46. 1927-1934.

LETERME, P; LONDOÑO, A; ESTRADA, F, SOUFFRANT, W Y BULDGEN, A. 2005. Chemical composition, nutritive value and voluntary intake of tropical tree foliage and cocoyam in pigs. Journal of the Science of Food and Agriculture. 85. Pag 1725-1732.

LETERME. P; BOTERO. M; LONDOÑO. M; BINDELLE. J Y BULDGEN. A. 2006. Nutritive value of tropical tree leaf meals in adult sows. Animal Science 82: pag 175–182

LOMONTE, B. 2000. Electroforesis en Gel de poliacrilamida. Manual de laboratorio: Inmunología General. Capitulo 13 pag. 92-101.

LY ET AL., 1998. Ileal and total tract digestibility of leucaena meal in growing pigs. Animal Feed Science and Technology 70: 265-273.

LY SAVON. 2007. Memorias de encuentro. 2007: IX encuentro de nutrición y producción en animales monogástricos. Innovación y desarrollo de tecnologías apropiadas para la producción familiar. Universidad de la república. Facultad de Agronomía. Uruguay. Noviembre 2007

LY, J. 1996. Una reseña corta sobre avances en estudios de porcosos digestivos en cerdos alimentados con dietas tropicales no convencionales. Revista computadorizada de producción porcina. Volumen 3 No 1 p 1-6

LY, J. 1999 Nuevas técnicas para la valoración de recursos alternativos: digestibilidad *in vitro* e *in vivo*, ileal y fecal, aparente o verdadera. Producción de cerdos. V Encuentro sobre Nutrición y Producción de Animales Monogástricos. Venezuela. 1999.

MACHAO, O. 1997. Valor nutricional de los alimentos – Elementos de evaluación y Factores de Calidad. 1ed. Medellín: Universidad de Antioquia.

MACÍA M. 1999. Estudios de métodos de evaluación del nitrógeno de follaje de arboles y arbustos para cerdos. Tesis en opción al grado de Maestro en

Producción Porcina. Instituto de investigaciones porcinas, La Habana Cuba pag 64

MAHECHA L Y ROSALES M. 1999. Valor nutricional del follaje de botón de oro *Tithonia diversifolia*, en la producción animal en el trópico. Asedado en <http://www.utafoundation.org/botondeoro.htm> Marzo 2010

MAKKAR, H. 2001 A slide presentation on the gas method. RCA regional training workshop on *in-vitro* techniques for feed evaluation [on line]. Yakarta, Indonesia. 16 – 27 de abril. Asedado en internet :<http://www.sian.info.ve/porcinos/publicaciones/producerdos/articulo1.htm>. Abril 2007

MAKKAR, H. 2003 Recent advances in *in vitro* gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources.

MALDONADO, A.M; JORRIN, J.V 2000. Electroforesis desnaturalizante en geles de poliacrilamida. Análisis de proteínas de hojas de *Arabidopsis thaliana*. Disponible en internet:<http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/16%20ELECTROFORESIS%20GELES%20PAA.pdf>. Feb 2010

MANRÍQUEZ, H.J. 1993. Control de calidad de insumos y dietas acuícolas: la digestibilidad como criterio de evaluación de alimentos - su aplicación en peces y en la conservación del medio ambiente. Deposito de documentos de la FAO. Fundación Chile. Asesado por internet www.fao.org/docrep/field/003/AB482S/AB482S08.htm. enero 2010

MARTENS S; LASCANO C; AVILA P; FRANCO LH; HINCAPIE B, PETERS M. 2009. Improving milk yield with *Canavalia brasiliensis*. Biophysical and socio-economic frame conditions of the sustainable management of natural resources. Tropentag, Octubre 6-8 2009. Asedado en internet http://www.tropentag.de/2009/abstracts/links/Martens_2e7sohth.pdf . Febrero 2010

MARTIN, G Y MACHADO, R. 1996. Potencial de *Centroema* para la producción de forrajes. Resúmenes X seminario científico de pastos y forrajes 13-16 marzo 1996. Pag 87-90

MARTINEZ, M; SAVON, L; DIHIGO, L; SIERRA, F; ORTA, M; HERNANDEZ Y; RODRIGUEZ, V; DOMINGUEZ, M Y SARDUY, L 2008. Indicadores morfométricos del tracto gastrointestinal y sus órganos accesorios con la inclusión de follaje de *Lablab purpureus* en las raciones para pollos de engorde. Revista cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 42 Numero2. Pag 191-194

MCDONALDS, EDWARDS, R. GREENHALGH, J; 1975. Nutrición animal. Segunda edición. Editorial Zaragoza España.

MENKE, K.H. and STEINGASS, H. 1988 Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. En: Anim. Res. Dev. Vol. 28; pag. 7- 55.

MICHAEL P, FRANCO L H, SCHMIDT, A; HINCAPIÉ B. 2003. Especies Forrajeras Multipropósito: Opciones para productores de Centroamérica

MINSON, D.J. 1977. Tropical Forage Legumes. Capitulo 13. The chemical composition and nutritive value of tropical legumes por Skeman P.J. 187-195p

MONSMA, D y MARLETT, J. 1996. Fermentation of carbohydrate in rat ileal excreta is enhanced with cecal inocula compared whit fecal inocula. J. Nutr. 126, 554-563.

MONTOYA C.A., LALLÈS J.P., BEEBE S., SOUFFRANT W., LETERME P., 2005. Influence of the type of Phaseolus vulgaris phaseolin and thermal treatment on *in vitro* sequential hydrolysis of phaseolin by pepsin and pancreatin. Fourth International Food Legumes Research Conference, New Delhi, India, October 18-22, 2005.

MONTOYA CA, GOMEZ AS, LALLÈS JP. SOUFFRANT WB, BEEBE S, LETERME P, 2008. *In vitro* and *in vivo* protein hydrolysis of beans (*Phaseolus vulgaris*) genetically modified to express different phaseolin types. **Food Chemistry, (106), 1225-1233.**

MONTOYA CA, LETERME P, VICTORIA NF, TORO O, SOUFFRANT WB, BEEBE S, LALLÈS JP. 2008. The susceptibility of phaseolin to *in vitro* proteolysis is highly variable across *Phaseolus vulgaris* bean varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry (56), 2183-2191.

MURPHY, ANDREA, COLUCCI, P; 1999. A Tropical forage solution to poor quality ruminant diets: Areview of Lablab purpureus. Livestock research for rural development (11) 2 1999. Asedado internet [http://www.cipav.org.co/1rrd/1rrd/1/2 colu.htm](http://www.cipav.org.co/1rrd/1rrd/1/2%20colu.htm). Abril 2009

NAGADI, S; HERRERO, M Y JESSOP, N. 2000. The effect of fermentable nitrogen availability on *in vitro* gas production and degradability of NDF. Animal Feed Science and Technology. 87. 241-251p

NIEVES, D; BARAJAS, A; DELGADO, G; GONZÁLEZ, C Y LY, J. 2008. Digestibilidad fecal de nutrientes en dietas con forrajes tropicales en conejos. Comparación entre métodos directo e indirecto. Nota técnica. Revista Bioagro 20(1) p 67-72.

OLIVARES J; JIMENEZ, R; ROJAS, S Y MARTINEZ, P. 2005. Uso de la leguminosas arbustivas en los sistemas de producción animal en el trópico. Revista Electronica Veterinaria (REDVET) ISSN 1695-7504. Vol VI, No 5, mayo 2005. Asedado en internet www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050505.html. Agosto 2008

OPORTA, E.S., Y RIVAS, A.M. 2006. Efecto de la densidad poblacional y la época de siembra en el rendimiento y la calidad de la semilla de una población de caupí rojo [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] en la finca el plantel. Trabajo de Diploma. Universidad Nacional Agraria Facultad de Agronomía. Departamento de Producción Vegetal.

ORTIZ, L Y RAMIREZ, A. 2000. Estudio electroforético de las albuminas y globulinas de cuatro genotipos de *Canavalia ensiformis*. Archivos latinoamericanos de nutrición. Volumen 50 No 1. Pag 74-80.

ORTIZ, R. 2003. Guía para alimentación animal y elaboración de concentrados. Serie Ciencia y tecnología No 14. Colombia.

OSPINA, S; ROSALES, M Y ARARAT, J. 2002. Variación genotípica en la composición química y digestibilidad de *Trichanthera gigantea*. Agroforestería en las Américas Avances de Investigación. Vol 9 No 33-34 pag 24-31.

PEDRAZA, R; DE CASTRO F Y ORSKOV E. 2004. Evaluación in vitro de follaje de *Gliricidia sepium* (Jacq) Kunth ex Walp. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 38 No 2. Pag. 155-160.

PETERS, M; FRANCO, LH; SCHMIDT, A Y HINCAPIÉ, B 2002. Especies forrajeras multipropósito: opciones para productores de Centroamérica. Centro internacional de Agricultura Tropical CIAT, Bundesministerium fur Wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entiwicklung BMZ y Deutsche Gesellschaft fur Technische Zusammenarbeit GTZ pag 114.

PETERS, M; SCHULTZA-KRAFT, R.; FRANCO, L.H. Y HINCAPIÉ, B. 2008. Evaluation of a core collection of *Canavalia brasiliensis* and *Canavalia* sp. For multipurpose uses in Santander de Quilicaho, Colombia 2007. Annual Report 2008. Improved Multipurpose Forages for the Developing pag. 70-74.

PHUC, B., OGLE, B. AND LINDBERG, J. 2000. Effect of replacing soybean protein with cassava leaf protein in cassava root meal based diets for growing pigs on digestibility

PIZARRO, E. 2005. Especies arbustivas, gramíneas y leguminosas para el trópico americano. Universidad Federal de Paraná, Brasil. En IX Seminario de Pastos y Forrajes

PIZARRO, E; RAMOS, A y ALMEIDA, J. 1999. Una nueva alternativa: *Morus* spp. Como arbustiva forrajera. Nota de investigación. Pasturas Tropicales, Vol 19 No 3. 42-44

POSSO, A; CARDENAS, H; MURGUEITIO, E; LETERME, P Y MUÑOZ, J. 2007 Diversidad genética de accesiones de nacedero *Trichanthera gigantea* mediante RAM'S (Random Amplified Microsatelities).

PRESTON , T.R Y MURGUEITIO, E. 1992. Strategy for sustainable livestock production in the tropics. CONDIRT Ltada: Cali p89.

QUINTERO, A.M. 2006. Determinación de inhibidores de tripsina en leguminosas tropicales. Trabajo de grado en Ingeniería Agroindustrial. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira.

RESTREPO T L F, SABOGAL O R, ULLOA B C, AVENDAÑO C H, BEJARANO B E, ANDRADE A C.1988. La Porcicultura en Colombia. Corporación de Estudios Ganaderos y Agrícolas CEGA e Instituto Agropecuario ICA. Bogotá Colombia. 185p

RIOS, C. 2001. Guía para el cultivo y aprovechamiento del Nacedero, Naranjillo o Cajeto *Trichanthera gigantea* (Humboldt y Bonpland) Nee. Convenio Andres Bello. Ciencia y Tecnología No 97. Pag 1- 25

ROA. M, ZEIGLER. R, VERA. R, y SARKARUNG S. 1993. Selection and Breeding for acid-soil tolerance in crops. Bioscience. Vol 43 No 7.

RODRIGUEZ, M Y FIGUEROA, V. 2000. Evaluación de la fracción nitrogenada de diferentes alimentosw fibrosos y su efecto sobre la digestibilidad in vitro. Instituto de Investigaciones porcinas. La Habana, Cuba. Disponible en: www.sian.info.ve/porcinos/publicaciones/rcpp21/MAYDEL.htm. enero 2010

RODRIGUEZ, P, GARCIA J Y DE BLASS C 1999. Fibra soluble y su implicación en nutrición animal: Enzimas y probióticos. Avances en nutrición y alimentación animal. Asedado en internet www.fedna.com/avances/fibra/nutrianimal.html. Abril 2007.

ROSERO, O. 2005. Evaluación del derivado de lactosa como prebiótico en cerdos posdestete y cerdas adultas. Tesis. Maestría en Ciencia Agraria con énfasis en Producción animal tropical. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira.

RUIZ, M.A. 2004 Desarrollo de una metodología *in vitro* para estimar la tasa de fermentación de los forrajes en el intestino grueso del cerdo Tesis. Maestría en Ciencia Agraria con énfasis en Producción animal tropical. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira.

RUIZ, T; FEBLES, G; CASTILLO, E; JORDAN, H; GALINDO, B. CHONGO, D; DELGADO, D; MEJIA, R; CRESPO.J. 2008. tecnología de producción animal mediante *leucana leucocephala* asociada con pastos en el 100% del área de la unidad ganadera. disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas_cultivadas_megatermic/112-leucaena.pdf. enero 2010.

SALINAS, J.G Y CASTILLA, C.E. 1987. Strategies implied in the use and management of acid soils in tropical America. Pages 87-101. En Gourley, L y Salinas J.G. Sorghum for Acid Soils. CIAT, Cali, Colombia.

SARMIENTO, R., SANTOS R. Y SEGURA J. (2005). Alimentación no convencional para monogástricos. Experiencias en el trópico mexicano.

Disponible en internet:
www.sian.info.ve/porcinos/publicaciones/encuentros/viii_encuentro/indice.htm.
abril 2007.

SARRIA P 1994. Efecto del nacedero (*Trichanthera gigantea*) como reemplazo parcial de la soya en cerdas en gestación y lactancia recibiendo una dieta básica de jugo de caña. *Livestock research for rural development* Volumen 6 No 1.

SARRIA, P. 2003. Forrajes arbóreos en la alimentación de monogástricos. En *Agroforestia para la producción animal en América Latina – II- Memorias de la segunda conferencia electrónica* (agosto 200 – marzo 2001). Deposito de documento de la FAO

SARRIA, P. ROSERO, P; MURGUEITIO, R.E. 1999. Desarrollo de Sisistemas Sostenibles de Producción de cerdos usando recursos tropicales disponibles a nivel de finca. CIPAV y SINTAP PRONATTA, Cali 100p.

SAVON L, GUTIERREZ O, OJEDA F, SCULL I. 2005. Harinas de follajes tropicales: una alternativa potencial para la alimentación de especies monogástricas. *Mesa redonda. Pastos y Forrajes*, Vol 28 No 1: 69-79.

SAVON L, SCULL,I; ORTA,M; TORRES, V. 2002 Caracterización físico-química de cinco harinas de follajes tropicales para especies monogástricas. *Revista Cubana de Ciencias Agrícolas*, Tomo 38No 3. Pag 291-296.

SAVON, L 2002. Fuentes fibrosas tropicales para la alimentación del conejo. *Memorias Segundo Congreso de Cunicultura de las Américas*. Hotel Palco. Ciudad de la Habana, Cuba pag. 6-9

SAVON, L; DIHIGO, L; SCULL, I; GUTIERREZ, O; ALBERT, A Y ORTA, M. 2006. Valor nutritivo del follaje de *Trichanthera* (*Trichanthera gigantea*) en animales monogástricos. *Revista Computadorizada de producción porcina*. Vol 13 No 1.

SAVON, L; SCULL, I Y ORTA, M; 2002. Valor potencial de Fuentes fibrosas tropicales para especies monogástricas. *V encuentro regional de especies monogástricas*. Ciudad de La Habana. Vol 9:4.

SAVÓN, L; SCULL, I. 1999. Valor Potencial de Alimentos Fibrosos Tropicales Para Especies Monogástricas. *Instituto de ciencia Animal*. Habana. Cuba pag. 4

SCHAAFFHAUSEN, R.V; 1963. Economical methods for using the legume *Dolichos lablab* for soil improvement, food and feed. 13: pag 172-178

SCHILTZ, S; GALLARDO, K; HUART, M; NEGRONI, L; SOMMERER, N; BURSTIN, J. 2004. Proteome reference maps of vegetative tissues in pea. An investigation of nitrogen mobilization from leaves during seed filling. *Plant Physiology*, Vol 135, No 4 (Agosto 2004) pp 2241-2260.

SCHUTZE-DRAFT, R; CELMENTS, R.J; KELLER-GREIN. 1997. Centrocema: Biología, Agronomía y Utilización. Capítulo 16. Experiencia Regional con Centrocema: Perú, Bolivia y Ecuador.pag. 489-518

SCULL, I Y SAVON, L. 2003. Determinación de polifenoles totales y taninos condensados en harina de forraje de cuatro variedades de *Vigna unguiculata*. Revista cubana de ciencia agrícola Tomo 37 No 4. 403-407.

SIPSA 2007. Producción porcícola colombiana. Costos de producción regionales para carne de cerdo. En: Boletín mensual. Precios y factores de producción pecuaria. Colombia, Diciembre 2007. No 12. Vol 6. Disponible en internet. <http://agronotas.wordpress.com/2008/02/13/la-produccion-de-cerdos-en-colombia/>. Enero 2010

SOLER, L 1998. La fibra alimentaria. Metabolismo implicaciones fisiológicas. Medicina clínica. 110:32-37.

SPANGHERO, M Y VOLPELLI, L. 1999. A comparison of the predictions of digestible energy content of compound feed for pigs by chemical or in vitro analysis. Animal Feed Science and Technology. 81 151-159

STROBEL, H y RUSSELL. 1986. Effect of Ph and energy spilling on bacterial protein syntesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. J. Dairy Sci. 69. P. 2941-2947.

TABARÉ, B. 1998. Cátedra de manejo de pasturas. Facultad de ciencias agrarias. Universidad de Lomas de Zamora

TAMAYO, A. 1996. Los árboles leguminosos y su valor nutritivo en la alimentación animal. En Memorias del Curso Pasturas Tropicales. Medellín Colombia.

TORRES, J. 2009. Digestibilidad in vitro prececal y cecal de diferentes leguminosas tropicales para la nutrición en monogástricos. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira.

TROPICAL FORAGES 2007. CIAT. An interactive selection tool. Forages fact sheets. Asedada en Internet <http://www.tropicalforages.info/index.htm>. mayo de 2007.

VAN A 1976. Formation, distribution and consequences of acid soils in agricultural development, pages 15-24 in M.J. Wright, ed. Plant Adaptation to Mineral Stress in Problem Soils. Cornell University Press, NY.

VAREL, V y Yen, G. 1997. Microbial perspectiva on fiber utilization by swine. Journal Animal Science 75: pagi. 2715-2722.

VARGAS, J; ARROYAVE, J Y RIVERA, B. 2000. Evaluación participativa de bancos de proteína (*Trichanthera gigantea*) y su efecto sobre la producción

lechera en sistemas de doble propósito campesino del bosque lluvioso tropical. Revista Sistemas de Producción –Universidad de Caldas. Col006/2000. 15p.

VIVAS N. 2005. Evaluación agronómica de 137 accesiones de *Desmodium velutinum* en suelos ácidos. 2005 Tesis de Maestría en ciencias agrarias. Producción animal tropical. Palmira abril.

WENK, C 2001. The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig. *Animal Feed Science and Technology*. 90. pag 21-33

WENK, C. 2001. The rolle of dietary fibre in the digestive physiology of the pig. *Animla Feed Science and Technology*. 90. Pag 21-33

WILFART, A; JAGUELIN-PEYRAUD, Y; SIMMINS, H; NOBLET, J; VAN MIGLEN, J Y MONTAGNE, L. 2007. A step-wise in vitro method to estimate kinetics of hydrolysis of feeds. *Livestock Science* 109. Pag. 179-181.

WILFART, A; JAGUELIN-PEYRAUD, Y; SIMMINS, H; NOBLET, J; VAN MIGLEN, J Y MONTAGNE, L. 2008. Kinetics of enzymatic digestion of feeds as estimated by a stepwise in vitro method. *Animal Feed Science and Technology* 141. Pag 171-183.

WILSON, Q.T; LASCANO, C.E 1997. *Cratylia argétea* como suplemento de un heno de gramínea de baja calidad utilizado por ovinos. *Pasturas Trop* 19(3): pag 2-8

Anexo A Procedimiento preparación soluciones digestibilidad prececal *in vitro*

Solución Tampón Fosfato 0.1 M, pH 6.0: Para prepararla se requiere la preparación previa de una solución de KH_2PO_4 0.1 M (13.609 g KH_2PO_4 / litro agua destilada) y de una solución de Na_2HPO_4 0.1 M (14.196 g Na_2HPO_4 / litro agua destilada); para luego mezclarlas en las siguientes cantidades 25 ml de la solución de Na_2HPO_4 0.1 M con 175 ml de la solución de KH_2PO_4 0.1 M.

Solución tampón Fosfato 0.2 M, pH 6.8:

Para prepararla se requiere la preparación previa de una solución de KH_2PO_4 0.2 M (27.218 g KH_2PO_4 / litro agua destilada) y una solución de Na_2HPO_4 0.2 M (28.392 g Na_2HPO_4 / litro agua destilada); para luego mezclarlas en las siguientes cantidades 99 ml de la solución de Na_2HPO_4 0.2 M con 101 ml de la solución de KH_2PO_4 0.2 M.

Solución de HCl 0.2 M

Se disuelven 16 ml de HCl 37% en un litro de agua destilada.

Solución de HCl 1 M

Se disuelven 8 ml de HCl 37% en 100 ml de agua destilada.

Solución de NaOH 1 M

Se disuelven 4 g de NaOH en tabletas en 100 ml de agua destilada.

Solución de NaOH 0.6 M

Se disuelven 24 g de NaOH en tabletas en 1 litro de agua destilada.

Solución de Cloranfenicol

Se disuelven 0.5 g de cloranfenicol en 100 ml de etanol.

Anexo B Procedimiento preparación de soluciones para prueba Fermentación cecal *in vitro*

Solución A

Se prepara una solución con $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (13.2 mg), $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (10 g), $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (1 g) y $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (8 g), en 100 ml de agua destilada.

Solución B (microtampón)

Se prepara una solución con 35 g de NaHCO_3 y 4 g de NH_4HCO_3 en 1 litro de agua destilada.

Solución C (Macromineral)

Se prepara una solución con Na_2HPO_4 (5.7 g), KH_2PO_4 (6.2 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.6 g) en 1 litro de agua destilada.

Solución D (indicador de óxido reducción)

Se prepara una solución de 100 mg de $\text{C}_{12}\text{H}_6\text{NO}_4\text{Na}$ (résazurine) en 100 ml de agua destilada.

Solución E

Solución reductora: 5ml de NaOH 1N y 1,425mg de $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ en 273,5ml

Anexo C Procedimiento preparación de soluciones para electroforesis SDS-PAGE

OBJETIVO

Separación de proteínas de peso molecular entre un rango de 90 a 14 KDa

PREPARACION DE SOLUCIONES

SOLUCION B (tampón TRIS 1.5 M; pH 8.8)

REACTIVO	CANTIDAD
Tris	18.18 g
SDS	0.4 g (2ml, SDS 20%)
Agua destilada	80 ml

Ajustar a pH 8.8 y llevar a 100 ml con agua destilada almacenar a 4 C

SOLUCION C (tampón tris 0.5 M; pH 6.8)

REACTIVO	CANTIDAD
Tris	6.06 g
SDS	0.4 g (2ml, SDS 20%)
Agua destilada	80 ml

Ajustar a Ph 6.8 y llevar a 100 ml con agua destilada almacenar a 4 C

SOLUCION SDS 20%

REACTIVO	CANTIDAD
SDS	20 g
Agua destilada	100 ml

TAMPON TRIS 1M Ph 6.8

REACTIVO	CANTIDAD
Tris	12.12 g
SDS	0.4 g (2ml, SDS 20%)
Agua destilada	80 ml

Ajustar a Ph 6.8 y llevar a 100 ml con agua destilada almacenar a 4 C

TAMPON MIGRACION

REACTIVO	CANTIDAD
Tris	3 g
Glicina	14.4 g
SDS	1.0 g (5ml, SDS 20%)
Agua destilada	900 ml

Llevar a 1 litro con agua destilada

AGENTE REDUCTOR (DTT 1M)

REACTIVO	CANTIDAD
DTT	5 g
Agua destilada	32 ml (Alicuotas de 1 ml a – 20 C)

PERSULFATO DE AMONIO 10%	
REACTIVO	CANTIDAD
Persulfato de Amonio	100 mg
Agua destilada	1 ml

TAMPON MUESTRA	
REACTIVO	CANTIDAD
SDS	0.4 g (2ml, SDS 20%)
Glicerol	2 ml
Tampón tris 1M; pH 6.8	1.2 ml
Agua destilada	2.8 ml
DTT (1 M)	2 ml

Agregar 0.01 % de azul de bromofenol y conservar a T ambiente

SOLUCION TENIDORA	
REACTIVO	CANTIDAD
Acido acético	100 ml
Metanol	400 ml
Azul de coomassie	2.5 g
Agua destilada	500 ml

SOLUCION DESTENIDORA	
REACTIVO	CANTIDAD
Acido acético	100 ml
Etanol	400 ml
Agua destilada	500 ml

Cantidades utilizadas en Gel migración y concentración

GEL	13%	4%
Agua destilada	4,65 ml	1.97 ml
Acrilamida	2,65ml	0.28 ml
Solucion B	2.5 ml	Solucion C 0.75 ml
Persulfato de amonio	60 microlitros	20 microlitros
Temed	10 microlitros	3 microlitros