

Valor nutritivo y cinética de fermentación *in vitro* de mezclas forrajeras utilizadas en sistemas silvopastoriles intensivos

Nutritional value and kinetics of *in vitro* fermentation of forage mixtures used in intensive silvopastoral systems

César A. Cuartas Cardona^{1*}, Juan F. Naranjo Ramírez², Ariel M. Tarazona Morales³, Rolando Barahona Rosales³, Julián E. Rivera Herrera⁴, Fredy A. Arenas Sánchez⁵, Guillermo A. Correa Londoño⁶

¹Grupo Biogénesis, Grupo GIPDTA. *Correo electrónico: cecuartas@gmail.com. ²Grupo INCA-CES. ³Universidad Nacional de Colombia (UNAL), FCA, Dpto de Producción Animal. ⁴Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria (CIPAV). ⁵Corporación Universitaria Lasallista (CUL). ⁶UNAL, FCA, Dpto de Ciencias Agronómicas.

RESUMEN

Se determinó la cinética fermentativa *in vitro* de mezclas de forrajes empleados en sistemas silvopastoriles intensivos (SSPi), utilizando siete tratamientos con proporciones distintas de los pastos *Cynodon plectostachyus* (TTO1) y *Megathyrsus maximus* (TTO2), así como de las forrajeras *Leucaena leucocephala* (TTO3) y *Guazuma ulmifolia* (TTO4). Mediante la técnica de producción de gas *in vitro*, se evaluó la degradabilidad, cinética de degradación y fermentación de la materia orgánica, el volumen final de producción de gas, entre otros indicadores. Se observó una menor producción acumulada de gas (144,7ml) en TTO3, mientras que TTO6, presentó la mayor producción (340,23ml). El tiempo de colonización fue mayor en TTO4 (10,31 horas). Tanto TTO5 (*L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 30%; *M. maximus* 50%) como TTO6 (*G. ulmifolia* 20%, *C. plectostachyus* 30%; *M. maximus* 50%), presentaron los mayores porcentajes de degradación (73,90 y 65,51) sin diferencia entre ellos. A las 96 horas de incubación el mayor valor de degradación lo presentó TTO1 (61,5%) y el menor valor fue para TTO3 (45,6%). El modelo estimó que la fracción soluble fue mayor en los tratamientos TTO3 y TTO7 (*G. ulmifolia* 20%, *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 20%; *M. maximus* 40%), respectivamente 23,8% y 26,3%; TTO6 presentó el valor más alto de la fracción degradable (56,4%) mientras que TTO3 fue el de menor valor (24,0%). La fracción indigestible más baja fue para TTO5 (19,4%). Estos resultados sugieren que al ser mezclados dentro de la dieta, los forrajes usados típicamente en SSPi tienen efectos asociativos que modifican el perfil fermentativo.

Palabras Clave: degradabilidad *in vitro*, cinética de fermentación, *Guazuma ulmifolia*, *Leucaena leucocephala*, mezclas de forrajes, producción de gas.

ABSTRACT

The *in vitro* fermentation kinetics of forage mixtures used in intensive silvopastoral systems (SSPi) was determined, using seven treatments with different proportions of the grasses *Cynodon plectostachyus* (TTO1) and *Megathyrsus maximus* (TTO2), as well as the forage legumes *Leucaena leucocephala* (TTO3) and *Guazuma ulmifolia* (TTO4). The organic matter degradation, the total cumulative gases production, the fermentation and degradation kinetics of organic matter and some other indicators was determined through the *in vitro* gas production technique. The TTO3 cumulative gas production was smallest (144.7mL) while TTO6 had the greatest (340.23 mL). Colonization time was higher in TTO4 (10.31 hours). TTO5 (*L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 30%; *M. maximus* 50%) and TTO6 (*G. ulmifolia* 20%, *C. plectostachyus* 30%; *M. maximus* 50%), had the highest percentages of degradation (73.90 y 65.51) without difference between them. After 96 hours, the greatest organic matter degradation was observed in TTO1 (61.5%) and the lowest in TTO3 (45.6%). It was estimated that the soluble fraction was higher in TTO3 and TTO7 (*G. ulmifolia* 20%, *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 20%; *M. maximus* 40%), 23.8% and 26.3% respectively; the degradable fraction was the greatest in TTO6 (56.4%) than TTO3 with the lowest (24.0%). The indigestible degradable fraction was lower for TTO5 (19.4%). These results suggest that forages typically used in SSPi when mixed into the diet, have associative effects that modify their fermentation profile.

Key words: *in vitro* degradability, fermentation kinetic, forage mixtures, gas production, *Guazuma ulmifolia*, *Leucaena leucocephala*.

Recibido: 01/10/14 Aprobado: 13/09/16

INTRODUCCIÓN

Uno de los retos comunes en alimentación de rumiantes dentro de la producción animal tropical es la formulación adecuada de dietas, donde paradójicamente, se cuenta con una gran diversidad de plantas forrajeras. Para mejorar la eficiencia de la fermentación es necesario equilibrar la oferta de energía y nitrógeno (N) en el rumen (Leng, 1990). La aplicación de este concepto en la formulación de raciones requiere disponer de datos de dinámica fermentativa (Fox *et al.*, 1992; Russell *et al.*, 1992; Sniffen *et al.*, 1992). Estos se pueden obtener usando la técnica de producción de gases, técnica que permite estudiar la interacción entre diferentes alimentos y puede ser empleada para evaluar el efecto de la inclusión de suplementos energéticos y proteicos (alimentos concentrados, forrajes de árboles y arbustos) en las características de degradación de la dieta básica (Mauricio *et al.*, 1999; France *et al.*, 1999; Williams, 2000).

El estudio de la degradación ruminal, permite conocer la magnitud y velocidad en la que se fermentan los alimentos o sus componentes; indispensable en la evaluación nutritiva de forrajes (Buchanan and Fox, 2000; López *et al.*, 2000). En el rumen, la fermentación de los forrajes sufre una fase inicial de digestión lenta, seguida de una fase de aceleración y otra de desaceleración hasta alcanzar un valor asintótico, llamado digestibilidad potencial (Weimer, 1998). Esta digestibilidad varía de acuerdo a las características propias de los forrajes incluidos en la dieta, al tipo y nivel de suplementación. Es importante determinar las tasas de degradación para permitir la elaboración de modelos que expliquen los procesos dinámicos de la digestión y aclaren los mecanismos de consumo de forrajes (Barahona y Sánchez, 2005; France *et al.*, 2008).

Aunque la interpretación de la cinética de degradación de los alimentos para rumiantes ha cobrado importancia, hasta hoy son incipientes los trabajos que abordan esta temática bajo las condiciones de nuestros sistemas de producción en países tropicales (Naranjo *et al.*, 2005; Posada y Rosero, 2006). En el caso de los sistemas silvopastoriles intensivos (SSPi) esto es particularmente importante de este modo, la eficiencia productiva y ambiental de la ganadería tropical (Cuartas *et al.*, 2014; Tarazona *et al.*,

2013). Las investigaciones en este tema son de gran importancia, ya que los resultados obtenidos pueden ser aplicados al mejoramiento de los diseños de SSPi, cuyos beneficios han sido ampliamente reportados (Cuartas *et al.*, 2014).

Por lo planteado anteriormente, el objetivo de este estudio fue determinar el valor nutritivo de algunas forrajeras y mezclas usadas en los SSPi así como, sus dinámicas de degradación *in Vitro*, a fin de obtener valores de referencia para el desarrollo de dietas y nuevos arreglos en SSPi.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y descripción de los sistemas

Las muestras evaluadas se obtuvieron de tres SSPi ubicados en el departamento de Sucre, Colombia, con coordenadas 09°51'24.86"; N 75°26'02.44"O, en la zona de vida bosque seco tropical bs-T (Holdridge, 1987); a una altitud de 134 m.s.n.m, con precipitación promedio de 1.000 mm/año, humedad relativa de 83,5% y temperatura de 27,1°C. El componente gramínea en los tres SSPi estuvo representado por los pastos *Cynodon plectostachyus* y *Megathyrsus maximus*; los arreglos de arbustos fueron SSPi 1 con *Leucaena leucocephala*; SSPi 2 con *Guazuma ulmifolia* y SSPi 3 con una mezcla de *L. leucocephala* y *G. ulmifolia*. Los tres SSPi contaban con dos especies de árboles maderables nativos; guayacán rosado (*Tabebuia rosea*) y solera (*Cordia gerascanthus*), en arreglos lineales dentro de los SSPi a una distancia de 30 metros entre filas, aunque estos últimos no hacen parte de la dieta de los animales, son importantes dentro de la dinámica del sistema. El uso de árboles maderables obedece a una política nacional en Colombia que incentiva la producción de madera asociada a la ganadería.

En estos SSPi, las arbustivas fueron manejadas a 1 metro de altura con densidades mayores a 8.000 arbustos/ha, donde grupos de machos cebuínos de 250 kg de peso promedio, pastoreaban en horarios y frecuencias diferentes, en franjas de 600 m² y rotación con cinta eléctrica cada 12 o 24 horas.

Recolección y procesamiento de los forrajes

La recolección se realizó en época de lluvia en los tres SSPi, los forrajes verdes tenían 45 días de descanso en el momento de la colecta, fueron secados en estufa de aire forzado y molidos con criba de 1 mm para determinar: Materia Seca (MS), Cenizas (CEN), Proteína Cruda (PC), Lignina (LIG) y Extracto Etéreo (EE) de acuerdo con lo establecido en la Asociación Oficial de Análisis Químico, por sus siglas en inglés AOAC (1990); Fibra Detergente Neutro (FDN) y Fibra Detergente Acido (FDA), según Van Soest *et al.* (1991). El fraccionamiento de la proteína se realizó de acuerdo a Licitra *et al.* (1996).

Tratamientos

Se diseñaron siete tratamientos cuyos porcentajes de inclusión de las mezclas se escogieron teniendo en cuenta las publicaciones previas del grupo de investigación relacionadas con estudios de consumo (Molina *et al.*, 2015; Cuartas *et al.*, 2015).

Los siguientes tratamientos corresponden a mezclas de forrajes provenientes de la valoración de SSPi: TTO1: *C. plectostachyus*; TTO2: *M. maximus*; TTO3: *L. leucocephala*; TTO4: *G. ulmifolia*; TTO5: *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 30%, *M. maximus* 50%; TTO6: *G. ulmifolia* 20%, *C. plectostachyus* 30%, *M. maximus* 50%; TTO7: *G. ulmifolia* 20%, *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 20%, *M. maximus* 40%

Producción de gas *in Vitro*

La producción de gas *in Vitro* se evaluó según Theodorou *et al.* (1994), incubando 0,5 g de muestra en botellas de vidrio de 110 ml. durante 6 horarios de retiro (6, 12, 24, 48, 72 y 96 horas), 3 repeticiones y 2 replicas de los tratamientos evaluados. El medio de incubación se preparó a partir de una mezcla de solución amortiguadora conforme McDougall (1948), macrominerales, microminerales, resazurina y una solución reductora.

El líquido ruminal fue obtenido de 3 vacas saludables en pastoreo de *C. plectostachyus* con 40 días de descanso, canuladas al rumen. Seguidamente se recolectó líquido de varias partes del rumen, filtrado en paños de algodón

y transportado al laboratorio en contenedores térmicos. Luego de adicionar 45 ml de solución amortiguadora e inocular con 5 ml de líquido ruminal (Posada y Rosero, 2006), cada botella fue sellada con un tapón de goma (14 mm) y dispuesta en cajas de polietileno expandido con espesor de 1,5 cm. e incubadas en estufa a $39^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

La presión de gas dentro de la botella se registró mediante la punción a través del tapón de goma con una aguja hipodérmica acoplada a un manómetro *Ashcroft® D1005PS Digital Pressure Gauge®*. Después de cada medición, se liberó el gas hasta igualar la presión externa e interna de las botellas.

Estimación del sustrato degradado

La digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) se determinó en residuos recuperados por filtración transcurrida las 6, 24, 48 y 96 h de fermentación, retirando en cada horario 3 botellas por tratamiento. Estos residuos fueron secados a 105°C en estufa, pesados e incinerados en una mufla a 550°C por 12 horas. La pérdida de peso después de la incineración fue usada para determinar la materia orgánica (MO) no degradable. La DIVMO se calculó expresando la diferencia entre el contenido de MO y el sustrato no degradable de la misma como porcentaje de la MO inicial. El factor de partición (*FP*; ml/g MO), que mide la eficiencia de la fermentación, fue calculado a las 24, 48 y 96 horas como la relación de la DIVMO (mg) y la producción acumulada de gas.

Análisis estadístico

Para este análisis se aplicó el diseño de bloques al azar (DBA) con los siete tratamientos arriba indicados, cuatro tiempos de fermentación y tres inóculos, uno de cada vaca canulada (que conformaban los bloques), para describir la dinámica de producción acumulativa de gas en el tiempo se utilizó el modelo no lineal propuesto por France *et al.* 1993; tal como lo demuestra la Ecuación 1. El ajuste de las curvas fue realizado mediante el procedimiento NLIN de SAS (2008).

$$V_t = V_f * \left[1 - e^{[-b*(t-L) - c(\sqrt{t} - \sqrt{L})]} \right]$$

(Ecuación 1).

Donde: V_t : volumen de gas en el tiempo t .

V_f : volumen de gas proveniente de la fermentación completa del sustrato (asíntota).

b : parámetro de ajuste del modelo.

t : tiempo de incubación en horas.

c : tasa constante de producción de gases del material potencialmente degradable.

L : tiempo de colonización (Fase *lag*), en horas.

Para estimar los parámetros de la cinética de degradación de la MO, se usó el procedimiento NLIN de SAS (2008), ajustando las curvas de degradación al modelo matemático propuesto por Ørskov and McDonald, (1979); visto en la Ecuación 2.

$$P(t) = A + B * (1 - e^{(-c*t)}) \text{ (Ecuación 2).}$$

Donde:

A : fracción soluble (%),

B : fracción potencialmente degradable en rumen

c : tasa de degradación (% h⁻¹)

t : el tiempo en horas.

Para determinar el efecto de los tratamientos en la degradación de la MO se realizó un análisis de medidas repetidas en el tiempo con ayuda del procedimiento MIXED de SAS (2008) y para la separación de éstas, se utilizó la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química de los tratamientos

En el Cuadro 1 se presenta la composición química de los tratamientos empleados.

La composición química de las mezclas de forrajes estudiadas presenta diferencias respecto del contenido de proteína y fibra entre las gramíneas y las leguminosas. En condiciones de trópico caluroso, es común observar bajos tenores de PC y altos contenidos de FDN (Barahona y Sánchez, 2005).

Los contenidos de FDN de los tratamientos que incluyeron leguminosas son menores a las gramíneas solas; por lo tanto, sería posible esperar consumos mayores de estos tratamientos, ya que dietas con contenidos menores de FDN favorecen la ingestión de más cantidad de nutrientes. Entendiendo que, animales que consumen mezclas de forrajes terminan ingiriendo más nutrientes totales (Cuartas *et al.*, 2015; Gaviria *et al.*, 2015).

Cinética de producción de gas *in Vitro*

El Cuadro 2 presenta los resultados de la producción de gas *in vitro* para los 7 tratamientos; el TTO3 presentó la menor producción acumulada de gas ($V_f=144,7$ ml) ($P < 0,0001$) a diferencia de los demás tratamientos, salvo la mezcla del TTO7. La mayor producción

Cuadro1. Composición química de los tratamientos

	TTO1	TTO2	TTO3	TTO4	TTO5	TTO6	TTO7
PC	10,43	11,47	28,75	10,95	14,07	10	16,02
FDN	80,27	75,93	48,55	79,9	69,88	79,76	72,84
FDA	31,43	30,13	15	22,2	25,93	29,37	26,62
LIG	4,97	4,37	14,55	11,75	6,5	4,97	8,98
EE	0,27	0,50	1,75	0,85	0,8	0,55	0,62
CEN	9,17	12,17	5,7	7,8	9,3	9,51	10,56

Los siguientes tratamientos corresponden a mezclas de forrajes provenientes de la valoración de SSPi: **TTO1**: C. plectostachyus; **TTO2**: M. maximus; **TTO3**: L. leucocephala; **TTO4**: G. ulmifolia; **TTO5**: L. leucocephala 20%, C. plectostachyus 30%, M. maximus 50%; **TTO6**: G. ulmifolia 20%, C. plectostachyus 30%, M. maximus 50%; **TTO7**: G. ulmifolia 20%, L. leucocephala 20%, C. plectostachyus 20%, M. maximus 40%. Proteína cruda (PC); Fibra detergente neutro y ácido (FDN, FDA); Lignina (LIG); Extracto Etéreo (EE); Cenizas (CEN).

Cuadro 2. Parámetros de producción de gas *in vitro* para los diferentes tratamientos.

TTO	V_f	L	C	50% pdn gas	T para 50% pdn gas
TTO1	298,3 ± 9,89 ^{ab}	7,88 ± 0,027 ^b	0,0840 ± 0,0021 ^{ab}	129,8	37,01
TTO2	313,2 ± 9,03 ^{ab}	7,82 ± 0,220 ^b	0,0919 ± 0,01 ^{ab}	133,5	37,59
TTO3	144,7 ± 4,26 ^c	8,56 ± 0,372 ^b	0,0839 ± 0,003 ^b	63,0	36,39
TTO4	277,8 ± 9,57 ^{ab}	10,31 ± 0,139 ^a	0,1111 ± 0,002 ^a	92,1	42,90
TTO5	271,4 ± 6,59 ^{ab}	7,16 ± 0,281 ^b	0,0921 ± 0,003 ^{ab}	129,6	33,48
TTO6	340,2 ± 12,23 ^a	7,26 ± 0,197 ^b	0,1042 ± 0,003 ^a	130,7	45,23
TTO7	237,4 ± 10,62 ^{bc}	8,30 ± 0,297 ^b	0,1062 ± 0,002 ^a	105,4	37,84

V_f: volumen acumulado de gas (ml) a la digestión completa del sustrato, L: tiempo de colonización (h), c: tasa constante de producción de gas del material potencialmente degradable (%/h), pdn: producción, 50% pdn gas en ml, T: tiempo en horas. Los siguientes tratamientos corresponden a mezclas de forrajes provenientes de la valoración de SSPi: **TTO1**: C. plectostachyus; **TTO2**: M. maximus; **TTO3**: L. leucocephala; **TTO4**: G. ulmifolia; **TTO5**: L. leucocephala 20%, C. plectostachyus 30%, M. maximus 50%; **TTO6**: G. ulmifolia 20%, C. plectostachyus 30%, M. maximus 50%; **TTO7**: G. ulmifolia 20%, L. leucocephala 20%, C. plectostachyus 20%, M. maximus 40%; a,b,c Letras diferentes en la misma columna indican valores con diferencia estadística significativa (P<0,01); EEM: error estándar de la media.

acumulada de gas se observó en el TTO6 (V_t=340,23 ml), sin diferencia estadística con los TTO2, TTO1, TTO4 y TTO5. El tiempo de colonización (*lag*) fue mayor para el TTO4 (10,31 h; P<0,0001), mientras que el resto de los tratamientos no presentaron diferencia entre ellos. La tasa constante de producción de gas del material potencialmente degradable (c) varió entre 8,4 para el TTO1 y 11,1% h⁻¹ para el TTO4.

La producción de gases *in vitro*, está relacionada con la eficiencia de utilización del alimento por parte de los microorganismos ruminales (Makkar, 2000). Sustratos nutricionalmente más deficientes tienden a presentar una fermentación con mayores proporciones de acetato y butirato (Blümmel *et al.*, 1999); La síntesis de estos compuestos está asociada con la producción de CO₂, por lo que estos sustratos presentan mayores volúmenes de gas por miligramo de sustrato degradado (Ngamsaeng *et al.*, 2006). La composición química de los forrajes afecta el volumen de gas producido y la tasa máxima de producción de gas *in vitro* (Makkar *et al.*, 1998).

Se ha reportado, que la producción de gas está relacionada con la degradación de la FDN (Nsahlai *et al.*, 1995) y que esa relación parece ser lineal; produciendo más gas aquellos forrajes con mayor contenido de FDN (Krizsan *et al.*,

2012; Pell y Schofield, 1993). Los resultados de este estudio son consistentes con estos reportes, al observarse las mayores producciones de gas con las gramíneas solas y las mezclas; comparativamente con el tratamiento que sólo contenía Leucaena y que produjo el menor volumen de gas.

La determinación del tiempo requerido para alcanzar el 50% de la producción de gas, es un indicador de la sincronía fermentativa y puede mostrar si el sustrato cuenta con características químicas adecuadas para el buen funcionamiento de la fermentación (France *et al.*, 1993). En este caso, la Leucaena pareciera favorecer dicho proceso porque acelera la fermentación del sustrato. Al respecto, Machado *et al.* (2012), encontraron que forrajes con menor contenido de FDN tienen tasas de producción de gas más altas al inicio de la fermentación, ello se debe a que los pastos con mayor valor nutritivo permiten mayor colonización y degradación eficiente por los microorganismos, haciendo que la fermentación sea mayor y más rápida (Nogueira *et al.*, 2000).

No se encontraron evidencias de que la suplementación de los pastos con las arbóreas incrementara el V_f de gas. Por el contrario, Sandoval *et al.* (2002) reportaron que la inclusión

de *Leucaena* en dietas de gramíneas reduce la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y la DIVMO e incrementa la producción de gas. Por su parte, Rodríguez *et al.* (2009) reportaron que la suplementación de *Pennisetum purpureum* con cantidades crecientes de *Leucaena*, tuvieron una relación lineal positiva con la producción de gas durante las primeras 5h de fermentación y con la DIVMO estimada a las 24h, probablemente por la contribución en MO fermentable de la leguminosa; pero sin afectar los volúmenes totales de gas producidos al final de la fermentación.

Degradación *in vitro* de la MO

En el Cuadro 3 se presenta la DIVMO a diferentes tiempos de incubación para los tratamientos evaluados. A las 6 horas de incubación, los tratamientos TTO4 (27,6) y TTO5 (30,6) presentaron los mayores porcentajes de degradación ($P<0,01$), con valores intermedios para los TTO1, TTO2, TTO4 y TTO7 ($P<0,01$). El menor valor de degradación en este horario fue para la mezcla del TTO6 con un 16,2% ($P<0,01$). A las 96 horas de incubación, no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos TTO1, TTO5, TTO6 y TTO7, siendo el menor valor a este tiempo de degradación el TTO4 con 45,6% ($P<0,01$),

Al evaluar los datos de degradabilidad *in vitro* a las 96 horas del TTO4 (45,64) se pudo

observar que no coincide con lo reportado por Barros *et al.* (2012) quien encontró que la DIVMS de la *Leucaena* es de 64% mientras que en las gramíneas acompañantes no llegan al 60%. No obstante, coincide con los reportes de Paengkoum and Traiyakun (2011), Flores *et al.* (1998) así como, Maasdorp and Dzowela (1998), quienes obtuvieron valores de 53%, 51%, 45,5% respectivamente para la digestibilidad *in vivo* e *in vitro* de la *Leucaena*. Sin embargo, Monforte *et al.* (2005); evaluando *M. maximus*., *G. ulmifolia* y *L. leucocephala* con composición química similar a la de los forrajes del presente experimento, reportaron valores de DIVMS de 74,4%, 42,4% y 44,7% respectivamente. A su vez, Delgado *et al.* (2001) obtuvieron que la degradabilidad potencial de una mezcla de *L. leucocephala* y pasto eran de 63,4% y que las tasas de degradación no eran diferentes entre la mezcla y los forrajes incubados individualmente.

Finalmente, Razz *et al.* (2004) reportaron una mayor degradabilidad inicial (20,83%) y efectiva (49,53%) en la *L. leucocephala* cuando se comparó con *M. maximus*, aunque éste presentó una degradabilidad final (58,68%) superior. Por su parte, Vergara *et al.* (2006), encontraron que la inclusión de *L. leucocephala* mejora los parámetros de la cinética de degradación potencial del pasto alemán, la que aumentó cuando se incubó con *L. leucocephala*.

Cuadro 3. Digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO)

TTO	6 horas	24 horas	48 horas	96 horas
TTO1	19,59 ± 0,537 ^b	39,57 ± 0,434	49,27 ± 1,37	61,50 ± 0,419 ^a
TTO2	13,69 ± 0,752 ^b	35,37 ± 0,462	45,57 ± 0,922	57,07 ± 0,568 ^b
TTO3	16,86 ± 0,581 ^b	32,66 ± 0,576	54,50 ± 0,448	57,29 ± 0,639 ^b
TTO4	27,62 ± 0,579 ^a	37,82 ± 0,717	44,43 ± 0,986	45,64 ± 0,292 ^c
TTO5	30,60 ± 0,548 ^a	38,25 ± 0,591	50,62 ± 0,678	61,47 ± 0,266 ^a
TTO6	16,17 ± 0,367 ^c	35,71 ± 1,69	45,47 ± 1,38	59,81 ± 0,358 ^{ab}
TTO7	17,56 ± 0,373 ^b	35,52 ± 2,01	49,12 ± 2,16	57,76 ± 0,412 ^{ab}

Los siguientes tratamientos corresponden a mezclas de forrajes provenientes de la valoración de SSPi: **TTO1**: *C. plectostachyus*; **TTO2**: *M. maximus*; **TTO3**: *L. leucocephala*; **TTO4**: *G. ulmifolia*; **TTO5**: *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 30%, *M. maximus* 50%; **TTO6**: *G. ulmifolia* 20%, *C. plectostachyus* 30%, *M. maximus* 50%; **TTO7**: *G. ulmifolia* 20%, *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 20%, *M. maximus* 40%; **EEM**: error estándar de la media.

El estudio ha demostrado que la inclusión de *L. leucocephala* incrementa la solubilidad inicial y la fracción potencialmente degradable de la dieta; las mezclas de forrajes presentaron mayor degradabilidad que las forrajeras incubadas solas tanto en las primeras como en las últimas horas de incubación. Aunque no se encontró efecto sobre la suplementación de las gramíneas solas con respecto a los parámetros de degradabilidad. Es importante mencionar, que los tratamientos TTO5 y TTO7 por presentar niveles de proteína superiores (14,07% y 16,02%; como los señalados en el Cuadro 1) tienen potencial de realizar un aporte superior de N y podría asociarse a que en condiciones de producción contribuiría a mejorar el aporte de este nutriente; favoreciendo la síntesis de proteína microbiana para las necesidades del animal (Aumont *et al.*, 1994; Fondevila *et al.*, 2002; Mota *et al.*, 2005).

Cinética de degradación de la MO

En el Cuadro 4, se presentan los parámetros de la cinética de degradación de la MO para los siete 7 tratamientos. La fracción soluble A fue mayor ($P < 0,01$) en los tratamientos TTO3 con un 23,8% y TTO5 con un 26,3% ($P < 0,01$). La fracción degradable B fue menor en TTO3 (25,35) que en los demás tratamientos ($P < 0,01$).

No hubo diferencia para la tasa de degradación estimada (c) de la fracción potencialmente degradable en ninguno de los tratamientos. La degradabilidad potencial del sustrato después de 96 horas de incubación ruminal (A + B) fue mayor en TTO5 (73,9%), sin diferencia estadísticamente significativa con las medias de los tratamientos TTO1 y TTO6 ($P > 0,01$), pero difiriendo significativamente ($P \leq 0,01$) de los demás tratamientos.

El FP se evaluó a las 24, 48 y 96 horas, para determinar diferencias en la tasa de degradación del sustrato asociadas con la producción de gas. Los mayores factores de partición se observaron con las leguminosas *G. ulmifolia* y *L. leucocephala*. A las 24 horas, *L. leucocephala* no difirió significativamente de *G. ulmifolia* ($P > 0,01$) pero sí del resto de los tratamientos ($P \leq 0,01$); mientras que éstas a las 48 horas difirieron significativamente del resto de los tratamientos (ver Cuadro 4).

En estudios de este tipo es común evaluar la relación entre el sustrato degradado (mg) y gas producido ml, (Blümmel *et al.*, 1997). Este FP es utilizado para indicar la variación en la producción de la biomasa microbiana y es de especial interés porque no siempre un mayor volumen de gas se asocia a una mayor degradación (Blümmel y Bullerdieck, 1997). En

Cuadro 4. Indicadores de degradación y factores de partición.

Param.	Parámetros de degradación de MO <i>in vitro</i> , valores expresados como porcentaje de la MO				Factor de Partición		
	A	B	A + B	C	24 horas	48 horas	96 horas
TTO1	11,9 ± 2,38 ^b	52,93 ± 2,03 ^a	64,83 ± 0,463 ^{ab}	0,115 ± 0,003	5,26 ± 0,283 ^c	2,92 ± 0,126 ^b	2,37 ± 0,05 ^{bc}
TTO2	4,7 ± 1,98 ^b	54,49 ± 1,822 ^a	59,19 ± 0,719 ^b	0,032 ± 0,106	4,71 ± 0,487 ^c	2,68 ± 0,089 ^b	2,15 ± 0,221 ^c
TTO3	23,81 ± 1,46 ^a	25,35 ± 0,855 ^b	49,16 ± 0,738 ^b	0,050 ± 0,007	10,97 ± 0,692 ^a	5,50 ± 0,335 ^a	3,64 ± 0,172 ^a
TTO4	5,53 ± 1,08 ^b	55,66 ± 0,759 ^a	61,18 ± 1,46 ^b	0,034 ± 0,002	9,71 ± 0,344 ^{ab}	5,75 ± 0,235 ^a	3,18 ± 0,289 ^{ab}
TTO5	26,26 ± 0,699 ^a	47,64 ± 0,937 ^a	73,90 ± 1,07 ^a	0,016 ± 0,003	4,83 ± 0,872 ^c	2,90 ± 0,039 ^b	2,37 ± 0,052 ^{bc}
TTO6	9,06 ± 0,651 ^b	56,44 ± 2,31 ^a	65,51 ± 2,91 ^{ab}	0,025 ± 0,004	5,32 ± 0,664 ^c	2,93 ± 0,079 ^b	2,29 ± 0,179 ^c
TTO7	8,67 ± 2,87 ^b	52,95 ± 2,21 ^a	61,61 ± 1,57 ^b	0,031 ± 0,005	5,79 ± 0,183 ^{bc}	3,54 ± 0,273 ^b	2,76 ± 0,083 ^{abc}

A: fracción soluble; B: fracción degradable; c: tasa de degradación; A+B: degradabilidad potencial. Los siguientes tratamientos corresponden a mezclas de forrajes provenientes de la valoración de SSPi: TTO1: *C. plectostachyus*; TTO2: *M. maximus*; TTO3: *L. leucocephala*; TTO4: *G. ulmifolia*; TTO5: *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 30%, *M. maximus* 50%; TTO6: *G. ulmifolia* 20%, *C. plectostachyus* 30%, *M. maximus* 50%; TTO7: *G. ulmifolia* 20%, *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 20%, *M. maximus* 40%. Los valores están expresados junto con sus EEM: error estándar de la media. Letras diferentes en la misma columna indican valores con diferencia estadística significativa ($P < 0,01$).

el presente estudio, el FP disminuyó a medida que aumentó el tiempo de incubación, lo que es típico cuando se estudian mezclas de forrajes (López *et al.*, 1998). El uso del FP permitió resaltar el papel de las arbustivas en el proceso fermentativo, al mostrar que *G. ulmifolia* y *L. leucocephala* presentaron los valores de FP más altos y en algunos casos diferentes a las gramíneas solas, lo que puede representar cambios en los patrones fermentativos de mezclas que contengan leguminosas. Altos valores de FP sugieren que una mayor proporción de la MS degradada se utiliza para la síntesis de biomasa microbiana, lo que parece suceder en las forrajeras *L. leucocephala* y *G. ulmifolia* y no así entre los pastos incubados solos o mezclados.

El análisis de los FP sugiere que el proceso fermentativo fue menos eficiente con el TTO6. Cuando la producción de células microbianas por unidad de sustrato digerido aumenta, una mayor fracción de la MO degradada se utiliza para proveer material de construcción para la síntesis de polímeros celulares, proporcionalmente se reduce la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), CO₂, CH₄ y calor (Leng, 1997). En el TTO6 se observó una mayor producción de gas para una misma cantidad de sustrato degradado, lo que podría indicar diferencias en los modelos de fermentación del sustrato y diferencias en las poblaciones microbianas.

Los resultados encontrados con respecto al FP son consistentes con lo reportado por Estrada *et al.* (2009), quienes encontraron que la mezcla pasto-*L. leucocephala* redujo la producción de proteína microbiana por cantidad de sustrato fermentado. Un elevado valor de FP indica mayor cantidad de sustrato degradado que se deriva hacia la síntesis de proteína microbiana (Blümmel *et al.*, 1997), lo que podría estar asociado a un mayor consumo de MS, más alta biomasa microbiana, elevada eficiencia en la síntesis de proteína microbiana, baja producción de metano y baja producción de ácidos grasos volátiles AGV (Blümme *et al.*, 1997).

CONCLUSIONES

La cinética de producción de gas no se alteró al incubar las gramíneas *C. plectostachyus* y *M. maximus* con los arbustos *G. ulmifolia* y *L. leucocephala*; la menor producción de gas

se presentó cuando se incubó sola *Leucaena* (144,7ml). La digestibilidad de las gramíneas solas y mezcladas no fue diferente después de 48 horas de incubación. Sin embargo, por la diferencia en la composición química de los tratamientos (mayor contenido de proteína y menor contenido de FDN) la inclusión con forrajeras es una estrategia importante desde el punto de vista de oferta de nutrientes para los animales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los propietarios y empleados de los predios Altagracia y Las Brujas en el Departamento de Sucre, Colombia, especialmente a Carlos Blanco por su particular apoyo en las jornadas de trabajo. A la fundación CIPAV, líder en la investigación con SSPi y responsable del establecimiento y manejo de los SSPi evaluados.

LITERATURA CITADA

- AOAC. Association of Official Analytical Chemists, Official methods of analysis of the 1990. Arlington, VA, USA. 15th edition. Disponible en línea: <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.1990.pdf>. [Oct. 22, 2016].
- Aumont, G., G. Saminadin, P. Cerneau and A. Xandé. 1994. Effects of sample preparation on nitrogen degradability of pangola grass (*Digitariadecumbens*) and tropical tree legumes. *J. Agr. Sci.*, 123:47-54. Disponible en línea: <http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&aid=4785552&fileId=S0021859600067769> [Oct. 19, 2016].
- Barahona, R. y S. Sánchez. 2005. Limitaciones físicas y químicas de la digestibilidad de pastos tropicales y estrategias para aumentarla. *CorpoicaCienc. Tec. Agro.*, 6:69-82.
- Barros, M., J. Solorio, J. Ku-Vera, A. Ayala, C. Sandoval and G. Solís. 2012. Productive performance and urinary excretion of mimosine metabolites by hair sheep grazing in a silvopastoral system with high densities of *Leucaena leucocephala*. *Trop. Anim. Health Prod.*, 44:1873-1878.

- Disponible en línea: <http://link.springer.com/article/10.1007/s11250-012-0150-0#page-1> [Oct. 12, 2016].
- Blümmel, M., P. Bullerdieck. 1997. The need to complement *in vitro* gas production: measurements with residue determinations from in sacco degradabilities to improve the predictions of voluntary intake of hays. *Anim. Sci. Prod.*, XX: pp. 71-75.
- Blümmel, M., H. P. Makkar and K. Becker. 1997. *In vitro* gas production: a technique revisited. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 77: 24-34. Disponible en línea: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0396.1997.tb00734.x/full> [Oct. 21, 2016].
- Blümmel, M., K. P. Aiple, H. Steingass and K. Becker, 1999. A note on the stoichiometrical relationship of short chain fatty acid production and gas evolution *in vitro* in feedstuffs of widely differing quality. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 81:157–167. Disponible en línea: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1439-0396.1999.813205.x/abstract> [Oct. 23, 2016].
- Buchanan, J. G. and D. G. Fox. 2000. Feeding Systems for Beef Cattle. In: Theodorou, M. K and J. France (Eds.), *Feeding Systems and Feed Evaluation Models*. CABI Publishing, Oxfordshire, UK, pp. 129-154. Disponible en línea: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1439-0396.2000.00273-2.x/abstract> [Oct. 16, 2016].
- Cuartas, C. A., J. F. Naranjo, A. M. Tarazona, G. A. Correa, R. Barahona-Rosales. 2015. Dry matter and nutrient intake and diet composition in *Leucaena leucocephala* – based intensive silvopastoral systems. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.*, 18: 303-311. Disponible en línea: <http://www.revista.coba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/2125> [Oct. 29, 2016].
- Cuartas, C. A., J. F. Naranjo, A. M. Tarazona, E. Murgueitio, J. D. Chará, J. Ku, F. J. Solorio, M. X. Xotchil Flores, B. Solorio y R. Barahona. 2014. Contribution of intensive silvopastoral systems to animal performance and to adaptation and mitigation of climate change. *Rev. Colomb. Cienc. Pecu.*, 27:76-94. Disponible en línea: <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/rccp/article/view/324881/20782385> [Oct. 28, 2016].
- Delgado, D. C., O. La O, B. Chongo, J. Galindo, Y. Obregón y A. I. Aldama. 2001. Cinética de la degradación ruminal *in situ* de cuatro árboles forrajeros tropicales: *Leucaena leucocephala*, *Enterolobium cyclocarpum*, *Sapindus saponaria* y *Gliricidia sepium*. *Rev. Cub. Cienc. Agric.*, pp. 141-145.
- Estrada, J. M., A. Sandoval, L. Ramírez and C. M. Capetillo. 2009. *In vitro* fermentation efficiency of mixtures of *Cynodon lemnuensis*, *Leucaena leucocephala* and two energy sources (maize or sugar cane molasses). *Trop. Subtrop. Agroecosyst.*, 10:497-503. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93912996018> [Oct. 15, 2016].
- Flores, O., D. Bolívar, J. Botero y M. Ibrahim. 1998. Parámetros nutricionales de algunas arbóreas leguminosas y no leguminosas con potencial forrajera para la suplementación de rumiantes en el trópico. *Liv. Res. Rur. Dev.*, 10(1). Disponible en línea: <http://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd10/1/cati101.htm> [Oct. 14, 2016].
- Fondevila, M., J. C. Nogueira and A. Barrios. 2002. *In vitro* microbial fermentation and protein utilisation of tropical forage legumes grown during the dry season. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 95:1-14. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840101003157> [Oct. 06, 2016].
- Fox, D. G., C. J. Sniffen, J. D. O'Connor, J. B. Russell and P. J. Van Soest. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: III. Cattle requirements and diet adequacy. *J. Anim. Sci.*, 70. pp. 3578-3596. Disponible en línea: <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/pdfs/70/11/3578?search-result=1> [Oct. 08, 2016].
- France, J., E. Kebreab, J. France and E. Kebreab. 2008. *Mathematical Modelling in Animal Nutrition*. CABI, Oxfordshire, UK. pp. 1-11.
- France, J., M. K. Theodorou, R. S. Lowman and D. E. Beaver. 1999. *Feed Evaluation for*

- Animal Production **In:** Theodorou M. K. And J. France (Eds). Feeding Systems and Feed Evaluation Models. CABI, Oxfordshire, UK. First Ed. pp. 1-9.
- France, J., M. S. Dhanoa, M. K. Theodorou, S. J. Lister, D. R. Davies and D. Isac. 1993. A model to interpret gas accumulation profiles associated with *in vitro* degradation of ruminant feeds. *J. Theoretical Biol.*, 163:99-111. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022519383711094> [Oct. 23, 2016].
- Gaviria-Urbe, X., J. F. Naranjo-Ramírez, D. M. Bolívar-Vergara, R. Barahona-Rosales. 2015. Consumo y digestibilidad de novillos cebuínos en un sistema silvopastoril intensivo. *Arch. Zootec.* 64:21-27. Disponible en línea: http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/img/web/17_09_57_03_12_3311_4.pdf [Oct. 22, 2016].
- Holdridge, L. R. 200. Ecología basada en zonas de vida. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica.
- Krizsan, S. J., F. Jančík, M. Ramin and P. Huhtanen. 2012. Comparison of some aspects of the *in situ* and *in vitro* methods in evaluation of NDF digestion. *J. Anim. Sci.*, Disponible en línea: <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/91/2/838?highlight=&search-result=1> [Oct. 20, 2016].
- Leng, R. A. 1990. Factors affecting the utilization of "poor-quality" forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutr Res Reviews.* 3 (1) pp. 277–303. Disponible en línea: <https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge-core/content/view/S0954422490000178> [Oct. 08, 2016].
- Leng, R. A. 1997. Tree Foliage in Ruminant Nutrition, FAO Animal Production and Health Paper 139. FAO, Rome, Italy.
- Licitra, G., T. M. Hernandez and P. J. Van Soest. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 57:347-358. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0377840195008373> [Oct. 19, 2016].
- López, S., J. France, J. Dijkstra and M. S. Dhanoa. 2000. Models to interpret degradation profiles obtained from *In Vitro* and **In: Situ** incubation of ruminant feeds. **In:** McNamara J.P., J. France, D.E. Beever (Eds.), *Modelling Nutrient Utilization in Farm Animals.* CAB International, Wallingford UK, pp. 73-86.
- López, S., M. D. Carro, J. S. González and F. J. Ovejero. 1998. Comparison of different *in vitro* and *in situ* methods to estimate the extent and rate of degradation of hays in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 73: 99-113.
- Maasdorp, B. V. and B. H. Dzowela. 1998. Comparison of *Leucaena leucocephala* and other three fodders as supplements for lactating dairy cows. **In:** Shelton M., R.C. Gutteridge, B.F. Mullen and R.A. Bray. *Leucaena. Adaptation, Quality and Farming Systems.* Proceedings of a workshop held in Hanoi, Vietnam. pp. 291-293.
- Machado, P. A. S., S. C. Valadares Filho, R. F. D. Valadares, M. F. Paulino, P. V. R. Paulino and M. I. Marcondes. 2012. Desempenho e exigências de energia e proteína de bovinos de corte em pasto suplementados. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 64 (3):683-692.
- Makkar, H. P. S. 2000. Applications of the *in vitro* gas method in the evaluation of feed resources, and enhancement of nutritional value of tannin-rich tree/browse leaves and agro-industrial by-products. Proceedings Meeting IAEA Technical Cooperation Regional AFRA Project. Cairo, Egypt, pp. 23-40. Disponible: <http://www.naweb.iaea.org/nafa/aph/public/review-3.pdf> [Oct. 23, 2016].
- Makkar, H. P. S, M. Blümmel, K. Becker. 1998. Application of an *in vitro* gas method to understand the effects of natural plant products on availability and partitioning of nutrients. **En:** E. R Deaville, E. Owen, A. T. Adesogan, C. Rymer, J. A. Huntington, T. L. J. Lawrence (Eds.) *In Vitro Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants,*

- BSAS Occasional Publication No. 22:147-150.
- Mauricio, R. M., F. L. Mould, M. S. Dhanoa, E. Owen, K. S. Channa and M. K. Theodorou. 1999. A semi-automated *In Vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 79:321-330. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840199000334> [Oct. 21, 2016].
- McDougall, E. I. 1948. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *J. Biochem.*, 43:99-109.
- Molina, I. C., G. V. Donneys, S. Montoya, J. Rivera, J. Chara, G. H. Villegas, R. Barahona 2015. La inclusión de *Leucaena leucocephala* reduce la producción de metano de terneras Lucerna alimentadas con *Cynodon plectostachyus* y *Megathyrus maximus*. *Liv. Res. Rur. Dev. Vol. 27*. Disponible en línea: <http://www.lrrd.org/lrrd27/5/moli27096.html> [Oct. 22, 2016].
- Monforte, G. E., C. A. Sandoval, L. Ramírez and C. M. Leal. 2005. Defaunating capacity of tropical fodder trees: Effects of polyethylene glycol and its relationship to *in vitro* gas production. *Anim. FeedSci. Technol.*, 123-124: 313-327. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840105001598> [Oct. 16, 2016].
- Mota, M., R. Rodríguez, E. Solanas and M. Fondevila, 2005. Evaluation of four tropical browse legumes as nitrogen sources: Comparison of *in vitro* gas production with other methods to determine N degradability. *Anim. FeedSci. Technol.*, 123-124(1):341-350. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840105001616> [Oct. 18, 2016].
- Naranjo, J. F., C. A. Cuartas y H. J. Correa. 2005. Comparación de cuatro modelos matemáticos para la caracterización de la cinética de degradación ruminal de algunos recursos forrajeros. *Liv. Res. Rur. Dev. Vol. 17*. Disponible en línea: <http://www.lrrd.org/lrrd17/9/nara17098.htm> [Oct. 25, 2016].
- Ngamsaeng, A., M. Wanapat, S. Khampa. 2006. Evaluation of local tropical plants by *in vitro* rumen fermentation and their effects on fermentation end-products. *Pakistan J Nutr.* 5: 414–418. Disponible en: <http://www.pjbs.org/pjnonline/ab525.htm> [Oct. 25, 2016].
- Nogueira, J. C., M. Fondevila, A. Barrios and M. González. 2000. *In vitro* microbial fermentation of tropical grasses at an advanced maturity stage. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 83:145-157. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840199001236> [Oct. 20, 2016].
- Nsahlai, I. V., N. N. Umunna and D. Negassa, 1995. The effect of multi-purpose tree digesta on *in vitro* gas production from napier grass or neutral-detergent fibre. *J. Sci. Food Agr.*, 69:519–528.
- Ørskov, E. R. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agr. Sci.*, 92:499-503.
- Paengkoum, P. and S. Traiyakun. 2011. Ruminant and intestinal digestibility of leucaena (*Leucaena leucocephala*) and jack fruit (*Artocarpus heterophyllus*) foliages using *in sacco* and three-step techniques. *Res. J. Appl. Sci.*, 6(2):88-91. Disponible en línea: <http://www.medwelljournals.com/fulltext/?doi=rjasci.2011.88.91> [Oct.11, 2016].
- Pell, A. N. and P. Schofield. 1993. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. *J. DairySci.*, 76:1063-1073. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030293774354> [Oct. 02, 2016].
- Posada, S. L. y R. Rosero. 2006. Comparación de modelos matemáticos: Una aplicación en la evaluación de alimentos para animales. *Rev. Col. Cienc. Pec.*, 20:141-148. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=295023034006> [Oct. 14, 2016].
- Razz, R., T. Clavero y J. Vergara. 2004. Cinética de degradación *in situ* de la *Leucaena leucocephala* y *Panicum maximum*. *Rev. Cient.*, 14:424-430.

- Rodríguez, R., M. Fondevila and C. Castrillo. 2009. *In vitro* ruminal fermentation of *Pennisetum purpureum* CT-115 supplemented with four tropical browse legume species. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 151:65-74. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037784010800374X> [Oct. 19, 2016].
- Russell, J. B., J. D. O'Connor, D. G. Fox, P. J. Van Soest and C. J. Sniffen. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.*, 70. pp. 3551-3561. Disponible en línea: <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/pdfs/70/11/3551?search-result=1> [Oct. 15, 2016].
- Sandoval, C. A., C. Capetillo, R. Cetina and L. Ramirez. 2002. A mixture simplex design to study associative effects with an *in vitro* gas production technique. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 101:191-200. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840102001372> [Oct. 15, 2016].
- SAS Institute Inc. 2008. SAS/STAT® 9.2 User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute, INC, Cary, NC, USA.
- Sniffen, C. J., J. D. O'Connor, P.J. Van Soest, D. G. Fox and J. B. Russell. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.*, 70:3562-3577.
- Tarazona, A. M., M. C. Ceballos, C. A. Cuartas, J. F. Naranjo, E. Murgueitio and R. Barahona. 2013. The relationship between nutritional status and bovine welfare associated to adoption of intensive silvopastoral systems in tropical conditions. **In:** Enhancing animal welfare and farmer income through strategic animal feeding - Some case studies (ed. Makkar H). pp. 69-78, FAO Animal Production and Health Paper No. 175. FAO, Rome, Italy.
- Theodorou, M. K., B. A. Williams, M. S. Dhanoa, A. B. McAllan and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 48:185-197. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0377840194901716> [Oct. 14, 2016].
- Van, Soest P. J., J. B. Robertson and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. DairySci.*, 74:3583-3597.
- Vergara, J., Á. Rodríguez, C. Navarro y Á. Atencio. 2006. Efecto de la suplementación con leucaena (*Leucaena leucocephala* Lam. de Wit) sobre la degradabilidad ruminal del pasto alemán (*Echinochloa polystachyah*.b.k. Hitch). *Rev. Cient.*, 16:642-647.
- Weimer, P. J. 1998. Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective. *J. Anim. Sci.*, 76:3114-3122. Disponible en línea: <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/pdfs/76/12/3114?search-result=1> [Oct. 19, 2016].
- Williams, B. A. 2000. Cumulative gas-production techniques for forage evaluation. In: Givens D. I., E. Owen, R. F. Axford and H. M. Omed (Eds.), *Forage Evaluation In: Ruminant Nutrition*. CABI, Oxfordshire, UK. pp. 189-213.