

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON MEZCLAS DE
LEGUMINOSAS TROPICALES SOBRE LA FERMENTACIÓN
RUMINAL, EL FLUJO DE PROTEÍNA DUODENAL Y LA
ABSORCIÓN DE NITRÓGENO EN OVEJAS**

LINA MARIA MONSALVECASTRO

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
POSGRADO EN CIENCIAS AGRARIAS
ÉNFASIS EN PRODUCCIÓN ANIMAL TROPICAL
PALMIRA, 2007**



**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON MEZCLAS DE LEGUMINOSAS
TROPICALES SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL, EL FLUJO DE
PROTEÍNA DUODENAL Y LA ABSORCIÓN DE NITRÓGENO EN OVEJAS**

LINA MARIA MONSALVE CASTRO
ZOOTECNISTA

Tesis de grado presentada como requisito para optar el título de magíster en Ciencias
Agrarias con énfasis en producción animal tropical

DIRECTOR:

PhD. Carlos Lascano

DIRECTOR ASOCIADO:

PhD. Luz Estella Muñoz

CODIRECTOR:

PhD. Hans Dieter Hess

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
POSGRADO EN CIENCIAS AGRARIAS
ÉNFASIS EN PRODUCCIÓN ANIMAL TROPICAL
PALMIRA, 2007

Esta investigación hace parte de un macroproyecto:

"The forage potential of tanniniferous legumes: Search for sustainable ways to cope with nutritional limitations in smallholder livestock"

aprobado y financiado por el Swiss Agency For Development and Cooperation – Swiss (SDC-ZIL), y ejecutado por Swiss Federal Institute of Technology Zurich (ETH), Center for International Agricultura (CIAT) y Universidad Nacional de Colombia

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	8
1. INTRODUCCIÓN.....	11
2. OBJETIVOS.....	14
2.1. Objetivo General.....	14
2.2. Objetivos específicos.....	14
3. HIPOTESIS	14
4. MARCO TEORICO.....	15
4.1. Importancia de la sostenibilidad de los sistemas de producción con rumiantes en los trópicos	15
4.2. Importancia del proyecto para Colombia.....	16
4.3. <i>Brachiaria humidicola</i> cv Llanero	18
4.4. <i>Vigna unguiculata</i>	20
4.5. <i>Calliandra calothyrsus</i>	22
4.6. <i>Flemingia macrophylla</i> Kuntze ex Merr.....	24
4.7. Taninos en la producción animal.....	25
4.7.1. Propiedades y clasificación de los taninos Condensados	26
4.7.2. Complejo tanino – proteína.....	27
4.7.3. Efectos de los taninos condensados en leguminosas forrajeras	28
4.7.4. Efecto de los taninos sobre consumo, digestibilidad y palatabilidad.....	29
4.7.5. Efectos del medio ambiente en la calidad de leguminosas con taninos ...	31
4.8. Flujo de Nitrógeno en rumiantes.....	34
5. MATERIALES Y METODOS.....	37
5.1. Protocolo Experimental.....	37
5.1.2. Análisis de Laboratorio	40
5.1.3. Cálculos y análisis estadístico	41
6. RESULTADOS.....	42
6.1. Composición de la dieta.....	42
6.2. Consumo y digestibilidad de nutrientes	42
6.3. Características del líquido ruminal	45
6.4. Utilización de nitrógeno	47
7. DISCUSIÓN.....	51
7.1. Calidad nutricional de la dieta basal (<i>Brachiaria humidicola</i> + Caupí)	51
7.2. Efecto del nivel de inclusión de leguminosas taníferas	54
7.3. Efecto de la Inclusión de la especie tanífera	58
8. CONCLUSIONES	61
9. REFERENCIAS	63

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Análisis de la composición de los alimentos (%) y digestibilidad in vitro de la MS (DIVMS).....	42
Tabla 1.2. Proporción de gramínea, <i>Caupí</i> , <i>Flemingia</i> y <i>Calliandra</i> ofrecida y consumida por ovinos.....	43
Tabla 1.3. Consumo y digestibilidad en el tracto total de ovinos alimentados con una dieta de gramínea y <i>Caupí</i> , con <i>F. macrophylla</i> o <i>C. calothyrsus</i>	44
Tabla 1.4. Características del líquido ruminal en ovinos alimentados con una gramínea y <i>Caupí</i> , con <i>F. macrophylla</i> o <i>C. calothyrsus</i>	46
Tabla 1.5. Utilización de nitrógeno (g/d) en ovinos alimentados con una gramínea y <i>Caupí</i> , con <i>F. macrophylla</i> o <i>C. calothyrsus</i>	48
Tabla 1.6. Recuperación de nitrógeno dietario y eficiencia microbial en ovinos alimentados con una gramínea y <i>Caupí</i> , con <i>F. macrophylla</i> o <i>C. calothyrsus</i>	50

DEDICATORIA

Doy gracias a Dios por permitir culminar una meta más en vida.

A la memoria de mi madre, quien me enseñó que en la vida hay que luchar con valentía, responsabilidad, humildad y amor para enfrentar y lograr todo aquello que me propusiera, gracias por ser la guía de cada uno de mis pasos, siempre estarás en mi corazón como el ser más maravilloso que tuve, tengo y tendré por el resto de mi vida.

A mi padre y mi hermano, quines son el motor de mi vida, son la alegría, el amor y el apoyo que me impulsan a continuar buscando nuevas metas, los amo con todo el corazón.

A la memoria de mi abuela, una mujer que me dejó grandes enseñanzas, emprendedora, que luchó hasta el final de sus días y me inculco grandes valores como el respeto y responsabilidad, mi más inmensa gratitud y cariño.

A Rodrigo y Margarita , a quienes les tengo gran gratitud y cariño por toda su colaboración y apoyo, quienes me impulsaron para que continuara en este camino que ha sido de gran importancia para mi formación académica y personal.

A mi abuela Ofelia y mi tío Juan, gracias por el apoyo y el cariño que siempre me han brindado.

A mi familia, gracias por el cariño, apoyo y por confiar siempre en mi.

AGRADECIMIENTOS

Expreso mis más sinceros agradecimientos a todas aquellas personas que permitieron que este trabajo llegara a su finalización:

- Al Dr. Carlos E. Lascano, por la oportunidad que me brindo para realizar este trabajo.
- Al Dr. Hans Dieter Hess, por su valiosa colaboración, orientación y enseñanza, a quien le tengo la más inmensa gratitud.
- A Tassilo Tiemann, por su colaboración. Gracias.
- A Patricia Ávila, por su apoyo, consejos y especialmente por su valiosa ayuda.
- A Gerardo Ramírez, Estadista, por su valiosa asesoría y orientación en análisis estadísticos.
- A Benilda García, Orlando Trujillo, Gustavo Ospinal, por su gran colaboración y apoyo, porque sin ellos, no habría sido posible la realización de este trabajo. Gracias por su amistad.
- A Hernando, Harold, Nestor y Ever, por su valiosa colaboración y apoyo en la realización de este trabajo.
- A Belisario Hincapié y Jenny Burbano, por su gran colaboración en literatura y asesoría en informática.
- A Julia Gómez, secretaria del programa forrajes, por su colaboración y apoyo en literatura.
- A la Dra. Luz Estella, por su gran colaboración.
- A la Universidad Nacional de Colombia - Sede Palmira, por su formación académica.
- Al (CIAT) Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- (ETH) Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, Swiss Federal Institute of Technology Zurich.

Efecto de la suplementación con mezclas de leguminosas sobre la fermentación ruminal, el flujo de proteína duodenal y la absorción de nitrógeno en ovinos

Resumen. Se evaluó en la Estación experimental Santander de Quilichao (CIAT), Cauca, Colombia, el efecto de suplementar una gramínea de baja calidad empleando mezclas de leguminosas con taninos y sin taninos, en diez ovinos machos adultos castrados de tipo africano divididos en dos grupos liviano y pesado (PV=26.11 y 34.56 kg) respectivamente, provistos de cánulas flexibles permanentes en rumen y duodeno, fueron asignados a 5 tratamientos. Los ovinos recibieron una oferta diaria de forraje de 45 g MS/kg por peso metabólico (PV^{0.75}) que consistió en una gramínea de baja calidad 55% (*Brachiaria humidicola* 6.4% PC en MS) con una leguminosa libre de taninos 45% (*Vigna Unguiculata* 19.2% PC en MS) sola o en combinación con leguminosas taníferas en proporciones de 1/3 ó 2/3 de (*Flemingia macrophylla* 18.7% PC en MS) y (*Calliandra calothyrsus* 15.8% de PC en MS). Se colectaron muestras de orina, heces, rúmen y duodeno para análisis bromatológico. Se evaluó consumo, digestibilidad aparente de nutrientes y flujo de nitrógeno (N) al duodeno. El consumo de leguminosas con taninos fue del 10 y 15% de los niveles ofrecidos. El consumo y la digestibilidad aparente de MO y FDA disminuyeron significativamente ($P<0.001$) cuando se incrementaron los niveles de *Calliandra* y *Flemingia*. El consumo de N y la concentración de N amoniacal en rúmen también disminuyeron ($P<0.01$) con la inclusión de leguminosas taníferas. El flujo de N total al duodeno aumentó ($P<0.01$) con *Calliandra* al 10% en la dieta, hecho no observado con *Flemingia* al mismo nivel. La absorción aparente de N no aumentó con la inclusión de leguminosas con taninos. Se concluye que los bajos consumos de leguminosas con taninos como suplemento de una

gramínea de baja calidad, no tuvieron efectos positivos en consumo, digestibilidad y flujos de N al intestino delgado de ovinos.

Palabras Claves. *Calliandra calothyrsus*, *Flemingia macrophylla*, flujo de nitrógeno, ovinos canulados, *Vigna unguiculata*.

Supplementation effect with mixtures of leguminous over the ruminal fermentation, the flow of duodenal protein and the absorption of nitrogen in sheep

Abstract. It was evaluated in the experimental Station Santander of Quilichao (CIAT) Cauca, Colombia, the effect supplementing a gramineaus of low quality using mixtures of leguminous with tannins and without them, in ten adult males sheep castrated of African Kind divided in two groups, light and heavy (BW = 26.11 and 34.56kg) respectively provided of flexible permanent canules in rumen and duodenum, they were assigned to five different treatments. The sheep received a daily grass after 45g DM/Kg per metabolic weight (BW) that consisted in gramineaus of low quality 55% (*Brachiaria humidicola* 6.4% CP in DM) with a leguminous free of tannins 45% (*Vigna unguiculata* 19.2% CP in DM) along or in combination with tanniferous leguminous in proportions of 1/3 or 2/3 of (*Flemingia macrophylla* 18.7% CP in DM) and (*Calliandra calothyrsus* 15.8% CP in DM). Some urine, excrement, rumen and duodenum samples were collected for a bromatologicall analysis. Consume and apparent digestibility of nutrient and flow of nitrogen (N) were evaluated to duodenum. The leguminous consume with tannins was 10 to 15% of the offered levels. The consume and the apparent digestibility of OM and ADF decrease significantly ($P<0.001$) when the level of *Calliandra* and *Flemingia* increase. The consume of nitrogen and the concentration of amoniactal nitrogen in rumen decrease ($P<0.010$) with the inclusion of tanniferous leguminous. The total nitrogen

flow to the duodenum increase ($P < 0.010$) with *Calliandra* to 10% in the diet, this wasn't observed with *Flemingia* to the same level. The apparent absorption of nitrogen didn't increase with the inclusion of leguminous with tannins. Its conclude that the low consumes of leguminous with tannins as supplement of a gramineaus of low quality didn't have positive effects in consume, digestibility an flow of nitrogen to the slim intestine in sheep.

Key words: *Calliandra Calothyrsus*, *Flemingia macrophylla*, nitrogen flow, canuled sheep, *Vigna Unguiculata*.

1. INTRODUCCIÓN

Las gramíneas representan las fuentes principales de alimentación de los rumiantes en los sistemas de producción en el trópico. Generalmente las gramíneas tropicales son de baja o moderada digestibilidad, deficientes en nutrientes esenciales (v.g. proteína cruda) y presentan niveles altos de fibra y bajos niveles de carbohidratos solubles y almidones. Esto a su vez resulta en baja actividad microbiana en el rumen que puede causar desbalances en los productos de digestión y en un uso ineficiente de la energía metabolizable. Por lo tanto, es muy importante desarrollar nuevas estrategias y sistemas de alimentación que contribuyan a incrementar la eficiencia de fermentación ruminal en animales alimentados con dietas a base de gramíneas de baja calidad para asegurar niveles adecuados de amonio ruminal, proteína bacteriana y proteína sobrepasante.

El primer limitante para la productividad de rumiantes alimentados con gramíneas de baja calidad es el deficiente contenido de proteína en muchas de las especies forrajeras tropicales. Para mejorar la eficiencia de fermentación ruminal de estos forrajes es primordial asegurar niveles adecuados de amonio ruminal (Leng 1990). Esto se puede lograr mediante la suplementación con leguminosas, porque generalmente presentan mayores niveles de N que las gramíneas. Si se elimina la deficiencia de N se puede incrementar la actividad de los microorganismos fibrolíticos, resultando en una mejor degradación de los forrajes (Hess *et al.*, 2003).

Por otra parte, en algunas leguminosas con potencial para ser utilizadas en los sistemas de alimentación en los trópicos existen factores denominados antinutricionales. Entre estos están los taninos condensados los cuales son capaces de reducir la digestión de fibra y proteína y por lo tanto afectar la fermentación ruminal (Carulla, 1994). Sin embargo, los taninos condensados

en niveles bajos pueden tener efectos benéficos en la nutrición de rumiantes como es el de evitar pérdidas de amonio en el rumen al reducir la degradación de proteínas e incrementar el flujo de nitrógeno al duodeno (fracción sobrepasante) y de esa forma asegurar una mayor absorción de N en el tracto posterior (Min *et al.*, 2003).

También existen leguminosas tropicales como *Vigna unguiculata* (Caupí), libres de factores antinutricionales y con excelente calidad nutricional. El Caupí presenta contenidos promedios de proteína de 20 – 22% en el follaje, digestibilidad *in vitro* por encima del 80% y una alta palatabilidad (Peters *et al.*, 2006). Esta leguminosa representa una fuente potencial para alimentación de rumiantes en el trópico y podría contribuir a mejorar la productividad animal. Sin embargo, los elevados costos de producción y altos requerimientos de nutrientes y agua impiden su amplia utilización en la nutrición animal en muchas regiones tropicales con suelos ácidos de baja fertilidad y con sequías prolongadas. Además la alta degradabilidad ruminal de su proteína podría resultar en una utilización ineficiente del nitrógeno por el rumiante.

Por lo tanto una alternativa para mejorar la nutrición de rumiantes en el trópico podría ser la suplementación con mezclas de leguminosas con características contrastantes. Resultados de estudios anteriores (Abreu, 2003; Monsalve, 2003; Valencia, 2003) sugieren que la combinación de leguminosas con y sin taninos permitiría aprovechar las ventajas de cada uno de estos grupos de plantas. Por un lado las leguminosas libres de taninos (e.g. Caupí) aumentarían el suministro de nitrógeno fermentable y la actividad microbiana en el rumen (Hess *et al.*, 2003). Por otro lado los taninos presentes en leguminosas arbustivas como *Calliandra calothyrsus* y *Flemingia macrophylla* protegerían parte de la proteína de la degradación ruminal (Salunkhe *et al.*, 1989) y aumentarían el suministro de proteína sobrepasante (Min *et al.*, 2003). Finalmente el uso de mezclas de

leguminosas que pueden ser cultivadas en la finca contribuiría a aumentar la biodiversidad en los sistemas de producción agropecuaria y ayudaría a reducir los costos de producción, la dependencia de insumos comprados y los riesgos de enfermedades y plagas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

- Desarrollar sistemas de alimentación más eficientes basados en la suplementación con leguminosas arbustivas con altos niveles de taninos condensados, contribuyendo al mejoramiento de la productividad ganadera.

2.2. Objetivos específicos

- Evaluar los efectos de mezclas de leguminosas con niveles variables de taninos condensados sobre, el consumo, la fermentación ruminal, y la utilización de nitrógeno en ovinos alimentados con una gramínea de baja calidad.

3. HIPOTESIS

1. La inclusión de leguminosas con altos niveles de taninos como *Calliandra calothyrsus* y *Flemingia macrophylla* en una dieta basada en *Brachiaria humidicola* y *Vigna unguiculata* mejora la utilización del nitrógeno por ovinos.
2. Debido a diferencias en su composición química y a su contenido y tipo de taninos condensados, las leguminosas *Flemingia macrophylla* y *Calliandra calothyrsus* difieren en sus efectos sobre la digestión y la utilización de nitrógeno.

4. MARCO TEORICO

4.1. Importancia de la sostenibilidad de los sistemas de producción con rumiantes en los trópicos

Actualmente se esta dando una revolución en la agricultura mundial que tiene profundas implicaciones en nuestra salud, medios de vida y medio ambiente. La población mundial y la urbanización, hacen que la demanda de alimentos en general y en particular de proteína animal tenga un crecimiento permanente. La mayor parte de este crecimiento demográfico ocurre en países en vía de desarrollo en zonas tropicales donde la necesidad de incrementar la producción de alimentos ejerce una creciente presión sobre los recursos naturales.

El 23% de la población mundial ubicada en países desarrollados consume de 3 a 4 veces la cantidad de carne y de 5 a 6 veces la cantidad de leche per cápita que consumen los países en vía de desarrollo (Delgado *et al.*, 1999). Y se pronostica un incremento de la demanda de carne bovina y de leche del 100% a escala mundial para el año 2020 (Delgado et al 1999), dicho aumento será mucho más pronunciado en los países en vía de desarrollo, pues en términos totales el 62% del consumo mundial de carne y el 60% del de leche corresponderá a los países en vía de desarrollo en ese año. El reto es alimentar a la creciente población mundial sin degradar la base de recursos naturales ni destruir el ambiente.

Las praderas tropicales constituyen un inmenso recurso natural para la producción de alimentos. Gran parte de estas tierras se utiliza principalmente para mantener rumiantes en pastoreo, que son capaces de convertir los carbohidratos estructurales de cadena larga de la vegetación en

productos que mejoran la disponibilidad de proteína para la nutrición humana. Una gran proporción de los pequeños productores en regiones tropicales cuentan con rumiantes de doble propósito para poder obtener carne y leche (Restrepo et al., 1991).

Este tipo de producción interrelacionan, con los sistemas de cultivos, donde el productor se caracteriza por ser más eficiente en el uso de los recursos, es decir los sistemas mixtos (agricultura y ganadería) tienen mayor disponibilidad de forraje por unidad de área, requiere menor energía por hectárea o por unidad animal, y tiene menor uso de insumos externos (Preston, 1987; Ruiz et al., 1996). Por lo tanto una estrategia útil en estos sistemas de producción es el recurso forrajero leguminoso, este cumple un papel importante, el uso más notable es sin duda la cantidad de forraje, cuya principal ventaja reside en el mayor contenido de proteína y minerales esenciales (McDonal et al., 1986 Minson, 1990). Por tanto, el uso de leguminosas forrajeras se presenta como una solución socialmente viable no solo para mejorar la producción animal, sino también con el gran potencial que tiene para contribuir a la sostenibilidad de los sistemas integrados de producción agropecuaria (Schultze-Kraft et al., 1997; Clavero, 1996; Ruiz et al., 1996; Isidor, 1996).

4.2. Importancia del proyecto para Colombia

Colombia es un país tropical en vía de desarrollo, y como tal encaja perfectamente dentro de la población a la cual se dirige el presente proyecto. Según la encuesta nacional hecha por el DANE y el Ministerio de Agricultura (2004) en Colombia existen aproximadamente 24.9 millones de bovinos, 2.8 millones de ovinos y 3.7 millones de caprinos, y aunque no se conoce con exactitud el porcentaje de cada una de estas especies de rumiantes que se encuentra en zona tropical diferente a trópico alto (< 2000 m.s.n.m.) y alimentado con forrajes de baja calidad; es una población considerable de

rumiantes y además la mayor parte del territorio nacional es zona tropical diferente de trópico alto.

La ganadería bovina Colombiana es la principal actividad del sector rural nacional. Genera el 3.6% del PIB total y el 27% del PIB agropecuario (Fedegan, 2005). El área total en pasturas es de 40.6 millones de hectáreas lo que corresponden al 36% del territorio nacional, y al 88% de la superficie agropecuaria nacional en producción (Cadavid, 1996). El 98.9% del área ganadera esta ocupado por sistemas de producción extensivos que poseen el 96% del inventario ganadero nacional (Rivas, 1995), gran parte de estos sistemas de producción se encuentra en zona tropical baja como la Orinoquía y la Amazonía Colombianas, donde la alimentación del ganado se basa en forrajes de baja calidad.

De otro lado la población colombiana estimada según el censo del 2005 hecho por el DANE es de 41.24 millones de personas. Probablemente este crecimiento demográfico provocará un incremento del 19% en la demanda de leche y carne suponiendo que el consumo per cápita anual de ambos productos se mantenga constante, y en el caso de la leche, por ejemplo, pasó de 134 kg/ha/año en 1999 a 139 kg/ha/año en el año 2004 (Fedegan, 2005). Además de la demanda interna, la política actual tiende a incrementar las exportaciones sobre todo ahora que la zona norte de Colombia fue declarada libre de aftosa por la oficina internacional de epizootias en Paris lo que abre la opción a la exportación de carne (Fedegan, 2005).

Lo anterior ejercerá mayor presión sobre los recursos naturales del país en los cuales se sustenta la ganadería, por tanto es necesario utilizar más eficientemente estos recursos y disminuir el impacto negativo sobre el ambiente para hacer de la producción animal con rumiantes una actividad más sostenible y rentable. En ese sentido el desarrollo de nuevas estrategias de alimentación con base en el potencial de los recursos locales disponibles

como leguminosas forrajeras para aumentar la eficiencia de la conversión alimenticia es un aporte importante para dicho propósito.

4.3. *Brachiaria humidicola* cv Llanero

Brachiaria humidicola es una gramínea nativa de África Tropical, la cual fue introducida a Colombia por el Programa de Pastos Tropicales del CIAT en el año de 1978. Esta gramínea se ha evaluado en diferentes centros experimentales y en numerosos ensayos regionales en varios sitios representativos de suelos ácidos de baja fertilidad (CIAT, 1987; ICA, 1987; Base de Datos de Forrajes Tropicales, 2002).

La *B. humidicola* es una especie perenne, erecta, estolonífera, de 40 a 90 cm de altura, estolones largos de color púrpura con vellosidades de color blanco y hojas lanceoladas de 4 a 6 cm de largo y 0.8 cm de ancho. Las hojas de las macollas son lineales lanceoladas, erectas, glabras, de color púrpura. Los tallos y las vainas de las hojas son de color verde con manchas púrpuras. La inflorescencia es una panícula con tres o cuatro racimos de 4 a 6 cm de largo, cada uno con 10 a 22 espiguillas alternas sobre un raquis de color púrpura y verde, ciliado y en forma de zig-zag (ICA, 1987).



Foto 1. *Brachiaria Humidicola* utilizada como dieta basal (Foto B. Hincapié)

Esta gramínea es considerada como una planta de aceptable valor forrajero (Pabón, 1985; CIAT, 1987), esta gramínea se adapta bien a suelos ácidos de baja fertilidad, presenta alta tolerancia a la sequía y a la quema, práctica cultural de uso común en los Llanos Orientales de Colombia (Enríquez, 1991). *B. humidicola* (CIAT 6133), presenta resistencia a la mayor plaga del género *Brachiaria* denominada mión o salivazo (*Aeneotomia reducta*), principalmente por su alta recuperación, alta tasa de crecimiento y facilidad para producir retoño (Pabón, 1985).

El valor nutritivo de *Brachiaria humidicola* se puede considerar moderado en términos de composición química, digestibilidad y consumo. Generalmente en la época de lluvia el contenido de proteína varía entre 6.0 y 8.0% y la digestibilidad de la materia seca entre 55 y 60%. Durante la época seca el contenido de proteína cruda (3.0 a 4.0%) y la digestibilidad (45 a 50%) se reducen considerablemente. En varios estudios en el Piedemonte Llanero los contenidos de proteína han fluctuado entre 6.5 y 10.6% y la digestibilidad de la materia seca entre 62 y 65% en rebrotes de 35 a 50 días de edad. En praderas de *Brachiaria humidicola* asociado con *Centrosema acutifolium* en Carimagua, se han obtenido ganancias diarias de peso de 400 a 600 gramos por animal, y en Santander de Quilichao en una asociación de esta gramínea con *Desmodium ovalifolium* se obtuvieron ganancias diarias de 350 gramos (ICA, 1987). Manejada en pastoreo rotacional se han obtenido ganancias diarias de 400 a 500 gramos por animal con carga de 3.0 a 6.0 animales por hectárea. En el Centro Regional de investigaciones del ICA La Libertad en Villavicencio, en praderas de esta gramínea asociada con Kudzú tropical y carga permanente de 3.0 animales por hectárea, se obtuvieron ganancias diarias por animal de 490 gramos en pastoreo alterno en los dos primeros años después del establecimiento. Bajo estas condiciones las ganancias de peso vivo por animal al año fue de 179 kg y de 538 kg por hectárea.

4.4. *Vigna unguiculata*

La Vigna o Caupí es una leguminosa herbácea anual, erecta, semi-erecta y rastrera, succulenta, de unos 40 cm de altura, con semillas grandes, flores racimosas de color púrpura azulado o blanco, hojas verdes ovales a cordiformes y planas, legumbres de 10 a 75 cm de longitud curvadas con 10 a 15 semillas por vaina. Semillas de diferentes colores, blancos, rojos, marrón y crema (Peters *et al.*, 2003). Crece como cultivo de secano en zonas de precipitación moderada (FAO, 2004). Se adapta bien a diferentes suelos y climas. Crece bien sin fertilizante en suelos buenos, en suelos de fertilidad baja responde a fósforo y potasio. Tiene alto rango de adaptación de precipitación, entre 700 a 2000 mm pero prefiere suelos bien drenados (Peters *et al.*, 2003). Crece muy rápido entre 70 y 140 días, desde el nivel del mar hasta los 1500m, en suelos arcillosos tiene tendencia para producir más biomasa en contraste, los suelos arenosos favorece la producción de grano (Peters *et al.*, 2006).



Foto 2. Estado de Floración de *Vigna Unguiculata* utilizada como dieta basal (Foto B. Hincapié)

Esta leguminosa se adapta a zonas con épocas vegetativas cortas (Peters *et al.*, 2003). Suele cultivarse para forraje o como pratense, algunas veces se mezcla con sorgo. Las semillas se emplean como pienso concentrado para el ganado bovino (Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura, 2004). Sus usos potenciales son como abono verde, cobertura, heno, ensilaje, concentrado, corte y acarreo y alimentación humana.

El Caupí es una excelente leguminosa para asociar con maíz con fines de ensilaje. Se cultiva para heno y ensilaje, pero se puede pastorear. El heno y ensilaje son buenos para toda clase de ganado (Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura, 2004). Dependiendo del tipo del suelo, clima y de la competencia con malezas y de la variedad, se puede producir entre 3 a 8 t de MS/ha. El contenido de PC en el follaje es de 14-21%, y en el grano puede estar entre 18 y 26%. La digestibilidad del material verde es superior al 80%, y su palatabilidad es alta (Peters *et al.*, 2006). Tiene una buena composición de aminoácidos esenciales y minerales.

Por su alta calidad de grano se presenta como un material apto para la producción de concentrados. También se puede usar el grano en raciones hasta un 20% en aves de engorde. Es recomendable un buen secado del grano para reducir inhibidores enzimáticos. También se puede hacer harina de hojas que sirve como suplemento para bovinos, cerdos y aves, utilizando de 6% a 8% de la dieta. Para henos y ensilajes se sugiere una oferta de 1 a 1.5% del peso vivo en base seca (Peters *et al.*, 2006). El Caupí es un excelente abono verde que puede reemplazar de 40 a 80 kg/ha de nitrógeno; se puede utilizar para recuperar la fertilidad del suelo. Su descomposición es muy lenta por lo tanto, es necesario plantar el cultivo después de la incorporación en áreas planas, o aplicación como mulch, en suelos pendientes.

4.5. *Calliandra calothyrsus*

Calliandra calothyrsus (Calliandra) es una leguminosa arbustiva de la Familia *Mimosaceae*, originaria de América Central y México (Macqueen, 1992). Esta leguminosa se utiliza como control de erosión, forraje para animales y sombra para cultivos. Es un arbusto que crece hasta los 12 metros de altura y alcanza hasta 0.20 m de diámetro de tallo. La corteza del tallo es lenticelada de color pardo negruzca; las hojas son glabras, bipinnadas semicaducifolias; las inflorescencias son terminales de color rojo púrpura; la corola es lampiña. Los frutos son lineales, aplanados, de 8 a 11 x 1 cm. La semilla es elipsoide y aplanada de 5 a 7 mm de largo y de color castaño oscuro, contiene de 8 a 12 semillas (Duke, 1984; CATIE, 1991; Pálmer *et al*, 1994). Crece hasta los 2000 m.s.n.m. En Centroamérica, crece bien entre 600 y 1300 m.s.n.m., en áreas con 20°C a 26°C, con rangos de precipitación anuales entre 700 y 3000 mm. (CATIE, 1991; Pálmer *et al*, 1994). Posee ventajas con respecto a otras leguminosas, entre ellas, tolerancia al pastoreo, a la sequía prolongada, a la cosecha por el animal, resistencia a las plagas y enfermedades y regeneración rápida después del corte.



Foto 3. *Calliandra Calothyrsus* en estado de prefloración utilizada como suplemento (Foto B. Hincapié)

En zonas húmedas permanece verde durante todo el año pero se adapta a condiciones de suelos anegados, aun cuando crece bien en un amplio rango de suelo calcáreos mal drenados. Tolera suelos arcillosos bien drenados con altos contenidos de aluminio pero su crecimiento se reduce en suelos compactados por sobrepastoreo (CATIE, 1991).

Se ha reportado que *Calliandra* tiene generalmente muy baja digestibilidad, lo que se le atribuye al alto contenido de taninos. En un estudio realizado por Pálmer y Schlink, (1992) se encontró que *Calliandra* en estado seco es menos digerible pero más consumida por animales que en estado fresco lo cual parece estar relacionado con la presencia de taninos.

En estudios realizados por Mahyuddin (1988) se encontraron altos contenidos de proteína cruda (24%) y bajos contenidos de fibra neutra detergente (FND) (24%). Kaitho *et al.*, (1993) citado por Paterson *et al.* (1997), encontraron niveles de PC entre 23% y 28% y FND y FAD entre 45% y 47% y entre 22% y 30%, respectivamente. En trabajos realizados en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Ensayos (CATIE, 1991) se registraron valores de 20.5% de PC y 37% de DIVMS.

En estudios *in vivo* utilizando cabras se ha mostrado que la digestibilidad de la MS de *Calliandra* varia entre 41% y 47% (Robertson, 1988; Ahn *et al.*, 1989; Waterfall, 1993 citado por Pálmer e Ibrahim, 1996). Estos bajos valores de digestibilidad están probablemente relacionados con el alto contenido de taninos, aunque los autores no mencionan efectos negativos sobre la salud de los animales alimentados con *Calliandra* (Shelton *et al.*, 1996; Dzowella *et al.*, 1995 citado por Flores *et al.* 1998).

En estudios más recientes (Monsalve, 2003) en un sistema *in vitro* de simulación ruminal, evaluó *Calliandra Calothyrsus*, los resultados indican que aunque no mejoró el valor nutricional de la dieta, se observa claramente que los taninos presentes en esta leguminosa están involucrados en la

reducción de metano y que la combinación de leguminosas de calidad contrastantes (Con y sin Taninos) en sistemas de alimentación alternativa, servirá para mejorar el valor nutricional de la dieta. (Mera 2004) en un sistema in vitro observó que los taninos en las leguminosas tropicales disminuyen la disponibilidad de N para los microorganismos ruminales y como consecuencia la digestibilidad del forraje es menor.

4.6. *Flemingia macrophylla* Kuntze ex Merr.

La *Flemingia* es nativa de Asia, pero es naturalizada en África al sur del Sahara. (Asare *et al.*, 1984). *Flemingia* es una leguminosa arbustiva perenne, tipo erecto, semi-erecto y rastreros, profundamente arraigado, puede medir hasta 2.5 m en altura. Las hojas son trifoliadas, las flores están en racimos densos de colores variables; las vainas son marrón oscuro, con semillas negras brillantes o marrón.



Foto 4. Follaje y floración de *Flemingia macrophylla* utilizada como suplemento (Foto B.Hincapié)

La *Flemingia macrophylla* se adapta bien a diferentes suelos desde arenosos a arcillosos, con pH de 3.8 a 8.0, suelos de baja fertilidad. Crece desde el nivel

del mar hasta 2000 m s.n.m., precipitación anual de 1000 mm a 3500 mm; tolera sequía, permanece verde y rebrota en épocas secas prolongadas de 4 a 5 meses, tolera tiempos cortos de inundación. Se recomienda fertilización, aunque crece también si fertilizar (Peters *et al.*, 2003).

Tiene alta producción de materia seca, con 1.5 a 6 t/ha en 8 a 10 semanas y rebrote excelente. El contenido de proteína cruda varía entre 15 y 30% y una digestibilidad entre 35 y 55%. La Flemingia posee componentes antinutricionales (tanino) que reducen su digestibilidad. No obstante, hay experiencias de buena aceptabilidad por cabras, ovejas y bovinos. Se puede usar en sistemas de corte y acarreo, como suplemento en sequía, banco de proteína, barrera viva (control de erosión), planta de sombra en café y cacao, leña, abono verde y planta medicinal (Peters *et al.*, 2003).

4.7. Taninos en la producción animal

En Colombia, uno de los problemas más grandes que los pequeños productores deben enfrentar es la baja calidad y disponibilidad de forrajes, especialmente durante la época seca. En este sentido, las leguminosas arbustivas juegan un papel importante como fuente de proteína y energía (Raaflaub y Lascano, 1995) cuando la calidad y la productividad forrajera de las gramíneas son muy bajas (Hess *et al.*, 2002). No obstante, muchas de estas leguminosas contienen concentraciones variables de taninos condensados (TC) que pueden tener efectos benéficos, perjudiciales o hasta tóxicos para los rumiantes

El alto nivel de taninos en especies de leguminosas adaptadas a suelos ácidos es de gran interés debido a que estas sustancias pueden afectar el rendimiento animal. La presencia de taninos ha sido asociada con el control del timpanismo en rumiantes (Sarkar *et al.*, 1976), mejoras en la utilización de la proteína por el animal, así como una reducción en la palatabilidad y en la digestibilidad de algunos forrajes. Sin embargo niveles adecuados de

taninos en la dieta protegen parte del N de la degradación ruminal y pueden favorecer una utilización más eficiente en el tracto posterior. Por otra parte, la presencia de taninos en la dieta puede modificar las rutas de excreción del N, disminuyéndose la cantidad eliminada en la orina e incrementándose la excretada en las heces (Fassler y Lascano, 1995). Concentraciones aceptables (20 y 40 g/kg. MS) en la dieta se han relacionado con un efecto benéfico en la utilización de N con ovinos. En un estudio se encontró un mejor balance de N con *D. Ovalifolium*, leguminosas herbáceas con altas concentraciones de taninos condensados al ser tratada con polietileno glicol (PEG) un agente ligador de taninos, que reduce la solubilidad y la reacción de los taninos con las proteínas (Carulla, 1994). También, estudios realizados en ovinos con leguminosas de bajos taninos (*C. argentea*) han encontrado un efecto positivo en la utilización de N (Fassler y Lascano, 1995; Quiñónez, 1996; Abreú *et al.*, 2004). Resultados que justifican la selección de especies de leguminosas (herbáceas y arbustiva) con bajos niveles de TC, caracterizando, además la estructura o tipo de TC extractables, pues los grupos de TC de las leguminosas, presentan comportamiento diferente respecto a la afinidad con que se unen a la proteína (Barahona *et al.*, 1996).

4.7.1. Propiedades y clasificación de los taninos Condensados

Los taninos se distinguen por los siguientes aspectos: astringencia, solubilidad en agua derivada de la interacción polifeno-polifenol (IPP), peso molecular (PM) (500-5000 daltons), estructura química con 12-16 grupos fenólicos y 5-7 anillos aromáticos para cada 100 unidades de PM y su capacidad para formar complejos con otras macromoléculas como carbohidratos, alcaloides, proteínas y saponinas entre otras, de las cuales dependen sus aplicaciones en alimentos, bebidas, fitoterapia, industria de pieles y defensa química y pigmentación en plantas.

Los taninos condensados se encuentran en dos formas en tejido vegetal: a) los extractables (solubles) que se diluyen usando un solvente orgánico y b) los ligados (insolubles) que permanecen unidos al tejido vegetal, aun después de la extracción con solventes orgánicos.

Los taninos condensados entre los cuales la catequina es el compuesto más conocido, son mezclas de flavonoles (Ford, 1978 citado por Perdomo, 1991). Estos taninos reaccionan con la pared celular y la proteína formando enlaces; en esta unión, algunas proantocianidinas (una forma de taninos condensados), posiblemente, forman complejos con la proteína de la pared celular, resultando este complejo relativamente resistentes a la degradación bacterial y enzimático (Ford, 1978 citado por Perdomo, 1991).

Las proteínas, son reversibles (hidrofobos y/o enlaces de hidrógeno) o irreversibles por la oxidación de los compuestos fenólicos que reactivan las quinonas (Fahey y Jung 1989). Los complejos tanino-proteína reversibles son estables e insolubles a un pH entre 3 y 7, pero son liberados a un pH más bajo que 3 ó mayor a 8 (Jones y Mangan, 1977), estas propiedades de los TC para ligar la proteína a un pH neutro y liberarlas a valores de pH bajo, ha llevado a muchos investigadores a pensar que los TC podría ser una herramienta para reducir la solubilidad de la proteína y su degradación en el rumen, lográndose así una mayor eficiencia en la utilización del N por los rumiantes por un incremento en el flujo de N y absorción de aminoácidos a nivel del duodeno (Driedger y Hatfield, 1972; Waghorn *et al.*, 1987).

4.7.2. Complejo tanino – proteína

Una de las propiedades de los taninos es su afinidad por proteínas. Los complejos tanino – proteína se forma normalmente por enlaces de hidrógeno entre los grupos fenólicos de los primeros y los grupos cetoamida de las segundas y por interacciones hidrofóbicas entre los anillos aromáticos de los taninos y las regiones hidrofóbicas de las proteínas. El proceso de formación

del complejo es normalmente reversible y tanto las proteínas como los taninos pueden, en principio, ser recuperados intactos. Sin embargo, si las proteínas y taninos son puestos en contacto en determinadas condiciones (alcalinidad, presencia de oxígeno), los polifenoles pueden oxidarse a quinonas y estas a su vez formar enlaces covalentes con aminoácidos nucleofílicos tales como la lisina o la cisteína, convirtiéndose en irreversible la asociación. Los factores que determinan la relativa afinidad de las proteínas por los taninos son el tamaño de la molécula, su composición aminoacídica y el pH. Las proteínas más grandes tienden a enlazarse más fuertemente a los taninos. Se ha observado que la afinidad de los taninos por las proteínas se incrementa proporcionalmente con el peso molecular de estas últimas. Esto deja de cumplirse cuando el tamaño de la molécula del tanino es tal que se insolubiliza y pierde totalmente la posibilidad de enlazarse (Kumar y Horgome, 1986). El pH tiene también gran influencia en el proceso; mientras más cercano está al punto isoeléctrico de la proteína, mayor será el grado de precipitación del complejo. Esto resulta ser de gran importancia para el rol de los taninos en la digestión por cuanto el pH varía de una a otra región del tracto digestivo (Haslam, 1989; Hagerman, 1989).

4.7.3. Efectos de los taninos condensados en leguminosas forrajeras

Los metabolitos secundarios conocidos como (TC) se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Muller, Harvey y McAllan (1992), en una revisión encontraron que aproximadamente el 80% de las dicotiledóneas perennes leñosas y el 15% de la dicotiledóneas herbáceas anuales contienen taninos. Químicamente los taninos son mezclas de polifenoles formados por algunas unidades monoméricas reconocidas y se clasifican en dos grandes grupos con base en la identidad de los núcleos fenólicos y el tipo de unión entre ellos, como taninos hidrolizables y condensados. Los primeros son carbohidratos centrales cuyos grupos carboxilos han sido eterificados por ácidos como el gálico, m-digálico o

hexahidroxidifénico. Estos tipos de taninos son fácilmente hidrolizados por las bases, los ácidos y las enzimas. Los TH son abundantes en hojas, frutos y tallos de Dicotiledóneas pero no en Monocotiledóneas (Lewis y Yamamoto, 1989). Por el contrario, los (TC) están ampliamente distribuidos y suelen producir antocianidinas por degradación ácida por lo que también se les conoce como proantocianidinas; son polímeros de unidades derivadas de los flavonoides con largas cadenas de catechina y epicatechina (Agrawal, 1989).

4.7.4. Efecto de los taninos sobre consumo, digestibilidad y palatabilidad

Ambos tipos de taninos, hidrolizables y condensados ligan proteína. En árboles forrajeros con altos contenidos de taninos y proteína, la degradación de la proteína es reducida debido a la presencia de taninos. Una reducción en la digestibilidad de la proteína puede ser racionalizada sobre la base de que los taninos se ligan ya sea a enzimas digestivas resultando en una inhibición de su actividad digestiva, o a las proteínas de la dieta, produciendo un complejo tanino – proteína menos digestible (Butler, 1989). Altos niveles de taninos en la dieta reducen el nivel de ingestión voluntaria en dos direcciones: primero pueden disminuir la digestibilidad de la materia seca en el rumen y reaccionar con la mucosa interior del tracto digestivo interfiriendo con la absorción a nivel de pared lo que produce señales de distensión física y segundo, la depresión puede ser debida a la palatabilidad. Los taninos de las plantas pueden precipitar proteínas salivares, causando un desagradable sabor astringente en la boca (Mitjavila, 1977).

Los taninos condensados afectan la digestibilidad y consumo de leguminosas tal como se ha demostrado en varios estudios. Por ejemplo, Barry (1984) comparó la digestibilidad de MS, proteína, y fibra utilizando *Lotus pendunculatus* con niveles altos y bajos de taninos (con y sin PEG) y encontró que la disminución de taninos incrementó la digestibilidad aparente de la

materia seca, del nitrógeno total y de la fibra (celulosa y hemicelulosa) Por otra parte, Terrill *et al* (1989) determinaron la digestibilidad de la FND, hemicelulosa, celulosa, lignina, nitrógeno, FAD y N insoluble en detergente neutro en un experimento con ovejas alimentadas con *Sericea lespedeza* con niveles altos y bajos de taninos. Los valores de digestibilidad aparente de cada una de las fracciones determinadas, fueron bajos para las dietas con niveles altos de taninos y altos para las dietas con niveles bajos de taninos.

En otro estudio, Barry (1984) determinó el consumo voluntario en ovejas alimentadas con *L. pedunculatus* con nivel alto (68 g/kg de MS) y bajo (7.5 g/kg de MS) de taninos condensados, y encontró que el consumo de energía metabólica (EM) en la dieta con nivel alto de taninos fue un 40% menor que en la dieta con bajo nivel de taninos. Esta reducción en el consumo de EM fue principalmente debido a una disminución en el consumo voluntario. Por otra parte, Perdomo (1991) encontró que la palatabilidad de especies de leguminosas con alto contenido de taninos (*Phyllodium pulchellum*, *Calliandra grandiflora* y *Flemingia macrophylla*) fue menor que la de especies con bajo contenido de taninos (*Desmodium velutinum* y *Cratylia argentea*). Estudios más recientes, *in vitro* efectuados por Rittner y Reed (1992) y Millar y Ehlke (1994), mostraron una relación negativa entre el contenido de taninos en la planta y la degradabilidad de la proteína, fibra y materia seca por microorganismos del rumen. Adicionalmente, Hess *et al.* (2003) reportaron degradabilidades aparentes negativas de la fibra neutra detergente en leguminosas tropicales arbustivas conteniendo altos niveles de TC, atribuyendo esto al enlace de los TC con componentes de la pared celular lo cuál resulta en la formación de un complejo indigerible por las enzimas bacteriales.

4.7.5. Efectos del medio ambiente en la calidad de leguminosas con taninos

Los efectos positivos o negativos de los TC presentes en leguminosas forrajeras han sido relacionados con su concentración en las hojas y tallos aprovechables de la planta y pueden, a su vez, variar en las especies (Jackson et al., 1996; Lowther et al., 1987), partes de la planta (Foo et al., 1982; Barahona et al., 1997), genotipos dentro de especies (Jhon y Lancashire, 1981; Schultze-Kraft y Benavides, 1988), madurez de la planta (Lees et al., 1995) y factores del medio ambiente (Fales 1984; Anuraga et al., 1993). La variación en el nivel de TC asociada con genotipos y condiciones del medio ambiente sugiere que existen posibilidades para regular la acumulación de estos compuestos mediante la selección o mejoramiento, o a través de leguminosas identificadas en nichos específicos que favorecen la baja concentración de taninos en el forraje aprovechable por los animales.

En las zonas templadas por ejemplo, para medir los efectos del medio ambiente y del suelo en la calidad del forraje de leguminosas con TC se ha hecho principalmente con especies de *Lotus* (*Lotus corniculatus* y *L. pendunculatus*), *Onobrychis viciifolia* y *Lespedeza cuneata*. En el caso de las leguminosas tropicales, los trabajos se han limitado al estudio de los efectos del medio ambiente sobre la calidad de las leguminosas con taninos *Desmodium heterocarpon* subsp. *Ovalifolium* (herbácea), bien conocida bajo su nombre anterior de *Desmodium Ovalifolium* y en un menor grado *Calliandra Calothyrsus* (arbustiva).

Resultados de estudios en leguminosas de zona templada sobre la temperatura han mostrado que la concentración de TC en las leguminosas de esta zona aumentan a medida que avanza la época de crecimiento, lo que estuvo asociado con el incremento de la temperatura promedio diario y la reducción de la precipitación. Sin embargo, en estudios de campo fue imposible aislar los efectos confundidos de la temperatura diaria y la

precipitación durante la época de crecimiento y la senescencia simultánea de las plantas. En otros estudios, en los que la temperatura se asocio con los cambios en la concentración de TC en las leguminosas, las respuestas observadas se confundieron con la intensidad de la luz. Otros estudios para evitar los efectos confundidos de los factores del medio ambiente se han realizado bajo condiciones de invernadero, (Fales 1984) estudio el efecto de temperaturas bajas y altas controladas en los atributos de calidad de genotipos de *L. cuneata* con contenidos bajos y normales de TC, y (Lees et al.,1994) realizaron estudios similares en clones de *L. pedunculatus* con bajos, medios y altos contenidos de TC. Los resultados muestran que las concentraciones de TC en el tejido foliar de ambas especies de leguminosas aumentó con la temperatura.

Por otra parte, la humedad es otro factor importante, en muchas regiones del mundo, la baja humedad en el suelo constituye un factor importante de estrés que limita la producción de biomasa de las plantas forrajeras. En las regiones tropicales las condiciones de estrés por sequía están normalmente asociadas con temperaturas ambientales relativamente altas. En Australia, (Anaruga et al., 1993), en estudios en cámara de crecimiento encontraron que las temperaturas altas, en oposición a las bajas, aumentaron la concentración de TC en *L. pedunculatus*, mientras tuvieron pocos efectos en los niveles de estos compuestos en *L. corniculatus*. Así mismo observaron que el estrés por humedad en el suelo indujo a una mayor acumulación de TC en las hojas de *L. pedunculatus* a medida que la temperatura aumentaba, lo que iba acompañado de una reducción en la producción de forraje.

Un estudio de campo realizado por (Salinas y Lascano 1982) con el objetivo de comparar los parámetros de calidad y de aceptabilidad de forraje por los animales, fue realizado en los Llanos Orientales cuando encontraron una marcada preferencia de los animales por una pastura de solo *D. Ovalifolium* donde había caído accidentalmente fertilizante. Esto motivo a llevar a cabo la

aplicación de fertilizantes (P + Ca; P + Ca + K; P + Ca + K + S; más un control sin fertilizante). Los resultados mostraron una escasa diferencia en la producción de forrajes con la combinación de P, Ca y K en el fertilizante, pero cuando se aplicó S a la mezcla la producción casi se duplicó. El aumento en la producción de biomasa con el fertilizante combinado se asoció con una reducción en TC y un aumento de N en el tejido foliar. Un hallazgo sorprendente fue que los animales pastaban perfectamente las áreas donde se había aplicado S y en las parcelas testigo el pastoreo fue limitado.

El efecto positivo de fertilización con S en combinación con otros nutrientes en la reducción de los niveles de TC y en el mejoramiento del valor forrajero total de las leguminosas tropicales con taninos está muy relacionado con los hallazgos de (Barry y Forss 1983) en Nueva Zelanda con *L. pedunculatus* que tiene TC altos y la reducción de taninos en las leguminosas en ambos trabajos estuvo asociada con el incremento en la producción de forraje y en el incremento de N en el tejido foliar.

En consecuencia parece que el valor nutritivo de las leguminosas con taninos cultivadas en suelos ácidos es, en gran parte, una función de las deficiencias de minerales importantes (por ej: S y P) en el suelo.

En estudios más recientes (Tiemann et al., 2006), evaluó el efecto de sitios con fertilidad de suelos contrastantes y con niveles diferentes de fertilidad dentro de sitio en producción y calidad de varias especies de leguminosas arbustivas forrajeras. (*Calliandra calothyrsus*, *Cratylia argentea*, *Desmodium velutinum*, *Flemingia macrophylla* y *Leucaena leucocephala*). Estas leguminosas fueron evaluadas en CIAT Palmira y en los Llanos Orientales. Estos experimentos corroboraron resultados de otros estudios que han mostrado que la selección de los sitios en términos de fertilidad de suelos es clave para definir “nichos” para leguminosas arbustivas con taninos. *L. leucocephala* es sin duda la especie con la mayor capacidad de producción de biomasa en suelos fértiles con pH neutro con o sin fertilización. Y los

resultados reportados confirman *L. leucocephala* no está adaptada a suelos ácidos con altos niveles de Al como los que predominan en regiones como los Llanos Orientales. Para estos suelos una opción es *F. macrophylla* ya que su rendimiento de forraje fue mayor que el de las otras especies en la localidad con suelos ácidos independientemente del nivel de fertilización. La especie *C. calothyrsus* tuvo alta producción de biomasa en los dos sitios con suelo contrastante lo cual sugiere un amplio rango de adaptación en comparación con las otras especies evaluadas.

4.8. Flujo de Nitrógeno en rumiantes

Debido a la compleja fisiología digestiva, los rumiantes disponen de tres fuentes de suministro de aminoácidos: La proteína microbiana sintetizada en el rumen y la proteína de los alimentos no degradada en este y el nitrógeno endógeno. La proteína microbiana constituye una proporción considerable del flujo duodenal del nitrógeno aminoacídico en los rumiantes y la maximización en su producción es la forma más económica de suplementar proteína. Las proteínas de origen microbiano son una importante fuente de aminoácidos para los rumiantes. En un sistema microbiano anaeróbico, como el rumen, la energía es el principal limitante para el crecimiento microbiano, razón por la cual, el suministro y eficiente utilización de esa energía para la utilización de esa proteína es de suma importancia. La síntesis de proteína microbiana requiere además de adecuado suministro de nitrógeno para alcanzar la máxima eficiencia. En este sentido, la degradabilidad de las proteínas y el reciclaje del nitrógeno son factores condicionantes. Si el nivel de nitrógeno no fuese el adecuado podría ocurrir una fermentación desacoplada sin producción útil de ATP. Si en cambio el nivel de nitrógeno es excesivo, la energía puede tomarse en el factor limitante para una eficiente utilización de nitrógeno. Asimismo, durante el paso de los alimentos por el rumen, gran parte de la proteína se degrada a péptido por acción de las proteasas. Los péptidos son catabolizados hasta aminoácidos

libres, y estos hasta amoníaco, ácidos grasos volátiles y dióxido de carbono (Bondi, 1988)

El amoníaco (NH_3), especialmente, es utilizado por los microorganismos si existe suficiente energía (Carbohidratos), para la síntesis de proteína y demás componentes de la célula microbiana como los componentes nitrogenados de la pared celular y los ácidos nucleicos. El NH_3 es la fuente principal de nitrógeno para los microorganismos, hay especies de bacterias que obtiene un alto porcentaje (20-50%) de su nitrógeno total a partir de aminoácidos y péptido. Por esto, se logra mayor síntesis de proteína microbiana y mayor eficiencia del uso de nitrógeno.

Parte del amoníaco liberado en el rumen no puede ser fijado por los microorganismos, entonces se absorbe y es llevado por la sangre hasta el hígado, donde se transforma en urea, siendo la mayor parte no utilizada por el animal y excretada en la orina (Bondi, 1988)

Los microorganismos (bacterias y Protozoarios) del rumen que contiene proteínas como componente principal, pasa con las proteínas de la ración no modificadas en el retículo-rumen, a través del omaso y abomaso, hasta el intestino delgado. Las proteínas microbianas, las proteínas de los alimentos que no son degradadas y las proteínas endógenas del animal, son digeridas en el intestino delgado por proteasas y participan en el flujo de aminoácidos que son absorbidos en él.

5. MATERIALES Y METODOS

5.1. Protocolo Experimental

Se llevó a cabo un experimento con ovinos en la estación experimental de CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) en Santander de Quilichao, Cauca, Colombia (N 3°69', Occ 76°31', 990 m s.n.m.) con temperatura media anual de 23°C y precipitación media anual de 1772 mm. Se utilizaron diez ovinos machos adultos castrados de tipo africano divididos en dos grupos dependiendo de su peso vivo (PV). El PV promedio del grupo liviano y el grupo pesado fue de 26.11 y 34.56 kg respectivamente. Los animales fueron provistos de cánulas flexibles permanentes en rumen y duodeno (tipo T) de Ankon (distribuidas por Bar Diamond Inc., Parma, ID). Se utilizaron los procedimientos quirúrgicos descritos por Balch y Cowie (1962), y Streeter *et al.* (1991) para la canulación ruminal e intestinal respectivamente. Los animales se alojaron en jaulas metabólicas individuales y se asignaron a 5 tratamientos diferentes en un diseño de cuadrado latino 5 x 5 repetido. Los cinco tratamientos consistieron en diferentes combinaciones de una gramínea de baja calidad con leguminosas con calidad nutricional contrastante.

La gramínea de baja calidad fue *Brachiaria humidicola* cv. Llanero (CIAT 6133), cosechada de una pastura de 5 meses de rebrote. Este forraje presentó un contenido bajo de proteína cruda (PC, 6.48%), un alto contenido de fibra en detergente neutro (FDN, 81.05%) y una baja digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS, 58.3%). Como forraje de leguminosa sin taninos se utilizó la planta completa de *Vigna unguiculata* (Caupí CIAT 288, 715, 716, 733, 1088-22, 1088-4) cosechadas a las 12 semanas después de la siembra en estado de prefloración con un alto contenido de PC (19.82%). Como

leguminosas ricas en taninos se utilizaron *Flemingia macrophylla* (CIAT 21083) y *Calliandra calothyrsus* (CIAT 22310). El follaje de estas dos leguminosas se cosechó 5 meses después del corte de estandarización y presentaron contenidos de PC de 18.74% y 15.86%, respectivamente. Después de la cosecha, los forrajes se picaron, se secaron al sol por 3 días, y se almacenaron bajo techo hasta su utilización.

Los animales recibieron una oferta diaria de forraje de 45 g MS/kg por peso metabólico (PV^{0.75}). Las dietas experimentales consistieron en T1: *Brachiaria humidicola* 55% + *Vigna unguiculata* (Caupí) 45%; T2: *B. humidicola* 55% + *Caupí* 30% + *Calliandra calothyrsus* 15%; T3: *B. humidicola* 55% + *Caupí* 15% + *C. calothyrsus* 30%; T4: *B. humidicola* 55% + *Caupí* 30% + *Flemingia macrophylla* 15%; T5: *B. humidicola* 55% + *Caupí* 15% + *F. macrophylla* 30%. Todos los forrajes se ofrecieron separadamente en dos raciones diarias. La leguminosa se ofreció entre las 07:00 y 10:00 horas y entre las 13:00 y 16:00 horas, la gramínea se ofreció durante el resto del día (10:00-13:00 y 16:00-07:00). Los animales tuvieron libre acceso a sal mineralizada comercial (composición: NaCl, 40%; Ca, 12.46%; P, 8%; Fluor, max. 0.08%; Mg, 0.30%; S, 4%; Cu, 0.15%; Zn, 0.70%; Yodo, 0.01%; Co, 0.005%). A cada animal se le ofrecieron 4 litros de agua fresca 3 veces por día.

Los cinco periodos experimentales fueron de 19 días cada uno, con 10 días de adaptación a las dietas y 8 días de muestreo. El peso vivo se midió al inicio y final de cada periodo experimental después de un periodo de ayuno de 17 horas. La fibra indigerible en detergente ácido (FDAI) se utilizó como marcador interno para estimar el flujo de la digesta (Waller *et al.*, 1980). El consumo, y la excreción de orina y de heces se midieron desde el día 11 al 15. Para recolectar las heces depositadas, se colocaron arneses y bolsas fecales a los animales el día 11. Las bolsas se desocuparon diariamente, las heces se mezclaron manualmente y se obtuvieron dos submuestras de 0.1 kg (peso húmedo). Una muestra se secó en horno de aire forzado a 60°C para

determinación del contenido de materia seca y la otra se congeló a -20°C , se liofilizó, se combinó por animal (dentro de periodo) y se paso por un molino Wiley (malla de 1 mm). La orina, se recolectó en recipientes plásticos y se acidificó con H_2SO_4 3M. Diariamente se tomaron submuestras de acuerdo al peso total de orina excretada y al factor de dilución y se almacenaron a -20°C , posteriormente, se combinaron por animal (dentro de periodo). El forraje rechazado por cada animal se retiró y se pesó diariamente antes de ofrecer la siguiente ración. Previamente a los análisis de laboratorio, las muestras de los rechazos se combinaron por forraje (dentro de periodo) para cada animal y las muestras del forraje ofrecido se combinaron por días en cada periodo. Las muestras, secas, se molieron en molino Wiley (malla de 1 mm).

En los días 17 y 18, se colectó digesta duodenal (30 ml) a intervalos de 6 horas durante 48 horas para la determinación del contenido de purinas, FDA indigerible y nitrógeno total. Las muestras de la digesta duodenal se liofilizaron, se combinaron por animal y día (dentro de periodo) y se molieron en molino Wiley (malla de 1 mm). En el día 19 se colectó líquido ruminal (10 ml) a intervalos de 6 horas durante 24 horas, para la determinación de pH y concentración de amoníaco. El pH del líquido ruminal se midió inmediatamente después del muestreo. Enseguida, las muestras se acidificaron con H_2SO_4 al 50% (5 ml de líquido ruminal) y se almacenaron a -20°C para determinación de nitrógeno total. En el día 19 (a las 24:00 horas), se colectó 200 ml de líquido ruminal y se congeló para aislar posteriormente las bacterias y determinar el contenido de nitrógeno bacterial. Al mismo tiempo se tomaron muestras de líquido ruminal para la determinación de ácidos grasos volátiles (AGV). Para esto se desproteinizaron 0.8 ml de líquido ruminal con 0.2 ml de ácido metafosfórico al 25% (peso/volumen) y se congelaron a -20°C para procesarlo posteriormente.

5.1.2. Análisis de Laboratorio

En los forrajes ofrecidos, la digesta duodenal y las heces se determinaron los contenidos de materia seca (MS) (105°C durante 24 horas) y materia orgánica (MO) (600°C por 3 horas), nitrógeno total (micro Kjeldahl; $PC = N \times 6.25$; AOAC, 1975), FDN y FDA (Van Soest *et al.*, 1991; adicionando sulfito de sodio a las muestras con taninos), y FDAI (Waller *et al.*, 1980). Adicionalmente, se determinó lignina en detergente ácido (LDA) (Van Soest *et al.*, 1991), DIVMS (Tilley y Terry, 1963, modificado por Moore y Mott, 1974) y taninos condensados por el método de butanol-HCL (Terrill *et al.*, 1992, modificado por Barahona, 1999), en los forrajes ofrecidos. Las muestras duodenales (días 17 a 18) se procesaron según lo descrito por Uden *et al.* (1980). El contenido de bacterias ruminales se determinó utilizando la técnica descrita por Zinn y Owens (1986). Para esta determinación se usó RNA de levadura como estándar (RNA Type II-C from *Torula yeast*; Sigma Chemicals, St. Louis, M.O. USA). Se aislaron las bacterias del líquido ruminal por centrifugación diferencial. En un primer paso, el líquido ruminal se centrifugó dos veces a 600 x *g* (15 minutos, 4°C) para separar las bacterias de los protozoos y las partículas de forraje. Se centrifugó el sobrenadante a 25000 x *g* (20 minutos, 4°C). Se descartó el sobrenadante, el pellet se resuspendió con solución salina (0.9% NaCl) y se centrifugó a 25000 x *g* (20 minutos, 4°C). Se descartó nuevamente el sobrenadante y el pellet se resuspendió con agua destilada y se liofilizó. En el líquido ruminal, la orina y la digesta duodenal se determinaron las concentraciones de NH₃ por el método del indofenol (McCullough, 1967) previa centrifugación (14000 x *g*, 5 minutos) y nitrógeno total por el método micro Kjeldahl (AOAC, 1975).

El pH en el líquido ruminal se determinó utilizando un potenciómetro (modelo 720 A Plus, Orion) equipado con el respectivo electrodo. Para la determinación de AGV en el líquido ruminal, los análisis se llevaron a cabo en un cromatógrafo de líquidos (Shimadzu CL-10A), equipado con un

detector UV/VIS (SPD 10AV), una columna Waters de 300 mm x 7.8 mm i.d. (Amine HPX – 87H, BIO Rad, Cat No. 125-0140), un autoinyector (SIL 10A), un controlador (SCL 10A) y un horno para columna (CTO 10A). Para el análisis las muestras se descongelaron a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugaron a 10000 rpm por 10 minutos. Una vez bien homogenizadas se procedió a filtrar con disco de durapore de fase PVDF (catalogo SIHV013NS de millepore de 13 mm de diámetro y tamaño de poro de 45 µm). Los filtrados se recogieron en viales de 2 ml y se inyectaron 20 µl. Se utilizó como referencia, previa ejecución de curva de calibración en los ácidos grasos: acetico, propionico, isobutirico y butírico.

5.1.3. Cálculos y análisis estadístico

La FDAI se utilizó como marcador interno de la digesta para determinar el flujo duodenal de nutrientes y de materia seca (Waller *et al.*, 1980) y los valores se corrigieron por la recuperación del marcador interno en las heces.

La relación nitrógeno/purinas de las bacterias aisladas del rumen y la concentración de purinas de la digesta duodenal se utilizaron para estimar el flujo duodenal de nitrógeno microbial. El nitrógeno de escape del rumen se estimó como el flujo total de nitrógeno al duodeno menos el flujo de N microbial y N endógeno. Para esto, el nitrógeno endógeno se tuvo en cuenta como una proporción del consumo de MS (2.2 g N/kg materia seca consumida; Hart y Leibholz, 1990). La eficiencia microbial se calculó dividiendo el flujo de nitrógeno microbial (g/d) al duodeno por la cantidad de MO digerida en el tracto total (kg/d). Antes del análisis estadístico los datos de las características del líquido ruminal se promediaron a través de horas. La información se sometió a un análisis de varianza para un diseño cuadrado latino 5 x 5 repetido, utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS versión 9.1 (2003). La comparación de medias se hizo utilizando contraste ortogonales

6. RESULTADOS

6.1. Composición de la dieta

La gramínea utilizada en este experimento (*Brachiaria humidicola*) presentó un contenido de PC mucho menor al encontrado en la leguminosa *Vigna unguiculata* (Tabla 1.1). Las leguminosas con taninos presentaron niveles altos de PC aunque no superiores al de *V. unguiculata*. El contenido de FDN en *B. humidicola* presentó valores superiores que en las leguminosas. En contraste, la FDA fue relativamente similar en las leguminosas con taninos y en *B. humidicola* y el menor valor se encontró en *V. unguiculata*. El contenido de taninos condensados (TC) fue mayor en *C. calothyrsus* que en *F. macrophylla*.

Tabla 1.1. Composición química de los alimentos y digestibilidad *in vitro* de la MS (DIVMS)

	<i>B. humidicola</i>			<i>V. unguiculata</i>			<i>C. calothyrsus</i>			<i>F. macrophylla</i>		
MO (%)	91.2	±	0.9	88.4	±	0.6	91.6	±	6.3	94.5	±	1.5
PC (%)	6.4	±	0.8	19.2	±	2.3	15.8	±	0.4	18.7	±	0.4
FDN (%)	81.0	±	1.9	59.9	±	3.4	53.1	±	9.5	60.3	±	7.4
FDA (%)	42.5	±	1.7	30.3	±	1.6	38.4	±	5.3	36.6	±	7.6
FDA Indigerible (%)	22.4	±	1.7	21.6	±	1.7	40.8	±	4.3	31.6	±	3.0
TC totales (%)							29.1	±	4.2	11.4	±	3.0
DIVMS (%)	58.3	±	1.5	68.8	±	1.4	30.6	±	2.4	37.0	±	1.7

6.2. Consumo y digestibilidad de nutrientes

A pesar de la oferta limitada de forraje (45 g MS/kg PV^{0.75}) el consumo de leguminosas con taninos fue muy variable e inferior a lo ofrecido (Cuadro 1.2). Como resultado de este menor consumo la proporción de leguminosa con taninos en la dieta fue de 10 y 15% en promedio y no de 15 y 30% como se había diseñado, lo cual muy posiblemente influyó en las variables de respuesta medidas en los animales.

Tabla 1.2. Proporción de *Gramínea*, *Caupí*, *Flemingia* y *Calliandra* ofrecida y consumida por ovinos en jaulas metabólicas

Tratamiento	Oferta (%)				Consumo (%)			
	<i>Gramínea</i>	<i>Caupí</i>	<i>Calliandra</i>	<i>Flemingia</i>	<i>Gramínea</i>	<i>Caupí</i>	<i>Calliandra</i>	<i>Flemingia</i>
T1	55	45			55	45		
T2	55	30	15		57	33	10	
T3	55	15	30		67	18	15	
T4	55	30		15	57	33		10
T5	55	15		30	67	18		15

El consumo de MS, MO, PC y NDF decreció a medida que se incrementó el nivel de *C. calothyrsus* y *F. macrophylla* en la dieta, siendo las diferencias significativas ($P < 0.001$) para los tratamientos con las leguminosas con taninos en comparación al control (*gramínea* + *Caupí*) (Tabla 1.3). Esta disminución en el consumo de forraje no dependió de la especie tanífera y no se encontraron diferencias ($P > 0.05$) en consumo entre *C. calothyrsus* y *F. macrophylla*.

Por otra parte, la digestibilidad aparente de la MO y FDA fue significativamente ($P < 0.001$) menor en los tratamientos con los niveles más altos de leguminosas con taninos en la dieta en comparación al control. De igual manera la inclusión del 15% de leguminosas taníferas en la dieta redujo ($P < 0.01$) la digestibilidad aparente de PC. En general, los efectos de las dos leguminosas taníferas sobre la digestibilidad de los nutrientes fueron similares. Sin embargo, en el caso de la digestibilidad de FDN se observó un mayor valor con 15% de *C. calothyrsus* que con 15% de *F. Macrophylla*.

Tabla 1.3 Consumo y digestibilidad en el tracto total de ovinos alimentados con una dieta de *gramínea* y *Caupí*, con *F.macrophylla* o *C. Calothyrsus*

Observaciones	Tratamientos*						Valor P Contrastes			
Ítem	T1	T2	T3	T4	T5	ESM	T2 vs T4	T3 vs T5	T1 vs T2,T4	T1 vs T3,T5
Consumo Diario g/kg PV ^{0.75}										
MS	44.2	41.4	36.1	40.1	38.1	0.438	0.729	0.407	0.012	<0.001
MO	42.5	40.0	35.9	39.5	37.0	0.415	0.788	0.421	0.020	<0.001
PC	6.4	5.6	4.5	5.7	4.7	0.165	0.692	0.296	0.002	<0.001
FDN	33.7	31.5	29.1	31.3	29.5	0.391	0.777	0.720	0.031	0.002
FDA	7.4	16.7	15.4	16.5	15.7	0.202	0.710	0.700	0.135	0.002
Digestibilidad Aparente %										
MS	60.1	58.2	58.7	58.6	57.8	1.087	0.810	0.557	0.211	0.178
MO	63.0	60.2	60.3	62.3	59.8	0.792	0.074	0.658	0.094	0.006
PC	62.8	59.8	54.4	63.8	56.2	1.635	0.104	0.435	0.624	0.010
FDN	70.0	70.5	70.6	70.4	68.2	0.601	0.960	0.010	0.374	0.615
FDA	63.9	57.9	59.6	61.8	59.2	1.168	0.026	0.812	0.009	0.004

* Valores en paréntesis son las proporciones de forraje en la dieta consumida

T1: Gramínea 55%(55%) + Caupí 45% (45%)

T2: Gramínea 55%(57%) + Caupí 30% (33%) + Calliandra 15%(10%)

T3: Gramínea 55%(67%) + Caupí 15% (18%) + Calliandra 30%(15%)

T4: Gramínea 55%(57%) + Caupí 30% (33%) + Flemingia 15%(10%)

T5: Gramínea 55%(67%) + Caupí 15% (18%) + Flemingia 30%(15%)

6.3. Características del líquido ruminal

El pH del líquido ruminal no varió con los tratamientos dietarios y promedió 6.5. Independiente de la especie la concentración de nitrógeno amoniacal en el líquido ruminal disminuyó ($P < 0.01$) a medida que aumentó la proporción de leguminosa con taninos en la dieta. Sin embargo cuando se incluyó el 15% de leguminosa tanífera, la concentración de amonio fue menor ($P < 0.01$) con *C. calothyrsus* que con *F. macrophylla* (Tabla 1.4).

Cuando se comparo con solo Caupí la concentración total de AGV no varió con la inclusión de las leguminosas taníferas. Aunque las dietas con *C. calothyrsus* resultaron en concentraciones mayores que las dietas con *F. macrophylla* ($P < 0.01$). Las concentraciones de acetato y de propionato no variaron ($P > 0.05$) con la inclusión de leguminosas taníferas pero la concentración de butirato disminuyó y la concentración de isobutirato aumentó ($P < 0.05$) cuando se incluyó *C. calothyrsus* o *F. macrophylla* en la dieta. Además la dieta con 10% de *C. calothyrsus* resultó en mayores ($P < 0.01$) concentraciones de acetato que la dieta con el 10% de *F. macrophylla*. Independientemente del nivel de inclusión, *C. calothyrsus* resultó en mayores concentraciones ($P < 0.05$) de isobutirato que *F. Macrophylla*

Tabla 1.4 Características del líquido ruminal en ovinos alimentados con una *gramínea* y *Caupi*, con *F.macrophylla* o *C. calothyrsus*

Observaciones	Tratamientos*						Valor P Contrastes			
Ítem	T1	T2	T3	T4	T5	ESM	T2 vs T4	T3 vs T5	T1 vs T2,T4	T1 vs T3,T5
PH	6.5	6.4	6.5	6.6	6.5					
N Amoniacal, mg/dL	14.6	10.7	8.3	11.3	10.9	0.555	0.461	0.003	<0.001	<0.001
N, Total, mg/dL	89.9	83.5	76.5	82.9	74.4	2.765	0.882	0.594	0.056	0.003
AGV Total, Mm	65.7	70.6	68.8	53.0	56.2	3.237	0.008	0.010	0.333	0.425
AGV Individual, mM/L										
Acetato	46.7	50.3	44.4	39.1	42.1	2.000	0.006	0.435	0.423	0.175
Propionato	10.1	9.5	9.5	8.9	9.7	0.883	0.630	0.906	0.403	0.647
Butirato	8.0	4.6	6.0	3.8	3.2	1.324	0.652	0.144	0.026	0.045
Isobutirato	0.8	6.1	8.8	1.2	1.1	1.281	0.012	0.003	0.084	0.014
N amoniacal en Orina mg/dL	14.6	16.1	12.2	11.0	10.1	1.800	0.251	0.638	0.776	0.367

***Valores en paréntesis son las proporciones de forraje en la dieta consumida**

T1= Gramínea 55%(55%) + Caupi 45% (45%)

T2= Gramínea 55%(57%) + Caupi 30% (33%) + Calliandra 15%(10%)

T3= Gramínea 55%(67%) + Caupi 15% (18%) + Calliandra 30%(15%)

T4= Gramínea 55%(57%) + Caupi 30% (33%) + Flemingia 15%(10%)

T5= Gramínea 55%(67%) + Caupi 15% (18%) + Flemingia 30%(15%)

6.4.Utilización de nitrógeno

El consumo de nitrógeno disminuyó ($P<0.01$) a medida que incrementó el nivel de inclusión de leguminosas con taninos (Tabla 1.5), no se encontraron diferencias ($P>0.05$) en consumo de N entre *C. calothyrsus* y *F. macrophylla*. El flujo de nitrógeno total al duodeno tendió ($P<0.01$) a disminuir con la inclusión del 10% de leguminosa tanífera y decreció claramente ($P<0.01$) cuando se incluyó el 15%. Este efecto fue similar ($P>0.05$) en ambas leguminosas taníferas. El flujo de nitrógeno microbial no se vio afectado ($P>0.05$) por el nivel de leguminosa tanífera en la dieta pero con el 15% de inclusión el flujo fue mayor ($P<0.05$) con *C. calothyrsus* que con *F. macrophylla*.

El nitrógeno de escape disminuyó ($P<0.01$) con la inclusión de leguminosas taníferas y fue mayor ($P<0.05$) con el 10% de *C. calothyrsus* que con el 10% de *F. macrophylla*. La excreción de nitrógeno en orina y la excreción fecal de nitrógeno disminuyeron ($P<0.05$) con la inclusión de leguminosas taníferas, mientras que la excreción en orina fue mayor ($P<0.05$) con el 15% de *F. macrophylla* que con el 15% de *C. Calothyrsus*. La excreción fecal tendió ($P<0.06$) a ser menor. El nitrógeno retenido tendió ($P<0.07$) a decrecer con la suplementación de las leguminosas taníferas en el nivel del 15%, con respecto al control y no se presentaron diferencias ($P>0.05$) entre las dos especies taníferas. La absorción aparente de nitrógeno no varió en forma significativa ($P>0.05$) entre *C. calothyrsus* y *F. macrophylla* pero disminuyó ($P<0.05$) con la inclusión de estas especies con respecto al control.

Tabla 1.5 Utilización de nitrógeno (g/d) en ovinos alimentados con una gramínea y Caupí con *F.macrophylla* o *C. calothyrsus*

Observaciones	Tratamientos*						Valor P Contrastes			
Ítem	T1	T2	T3	T4	T5	ESM	T2 vs T4	T3 vs T5	T1 vs T2,T4	T1 vs T3,T5
Consumo de Nitrógeno	13.2	11.4	9.6	11.8	9.7	0.353	0.401	0.951	0.010	<0.001
Flujo duodenal de nitrógeno										
Nitrógeno total	11.3	10.5	9.9	9.5	9.3	0.353	0.070	0.239	0.058	0.006
Nitrógeno no amoniacal	11.2	10.4	9.8	9.4	9.2	0.352	0.069	0.233	0.062	0.006
Nitrógeno microbial	2.8	2.8	3.1	3.2	2.3	0.214	0.171	0.024	0.600	0.602
N de escape ruminal	8.4	7.6	6.7	6.2	6.8	0.272	0.015	0.750	0.002	<0.001
Nitrógeno en orina	5.0	4.0	3.0	4.3	3.9	0.297	0.558	0.033	0.020	0.002
Excreción Fecal de nitrógeno	4.8	4.6	4.4	4.3	4.0	0.139	0.120	0.055	0.013	0.007
N aparentemente retenido	3.2	2.7	2.2	3.2	1.7	0.353	0.331	0.307	0.544	0.064
Absorción Aparente de N	6.4	5.8	5.4	5.2	5.2	0.324	0.182	0.658	0.041	0.014

***Valores en paréntesis son las proporciones de forraje en la dieta consumida**

T1= Gramínea 55%(55%) + Caupí 45% (45%)

T2= Gramínea 55%(57%) + Caupí 30% (33%) + Calliandra 15%(10%)

T3= Gramínea 55%(67%) + Caupí 15% (18%) + Calliandra 30%(15%)

T4= Gramínea 55%(57%) + Caupí 30% (33%) + Flemingia 15%(10%)

T5= Gramínea 55%(67%) + Caupí 15% (18%) + Flemingia 30%(15%)

Expresado como proporción del nitrógeno total consumido, el nitrógeno de escape ruminal tendió ($P<0.08$) a incrementar con la inclusión de leguminosas con taninos (Tabla 1.6). Igualmente el flujo de nitrógeno microbial incrementó ($P<0.05$) con la adición de leguminosas taníferas. Además como proporción el flujo de nitrógeno microbial fue mayor ($P<0.01$) con el 15% de *C. calothyrsus* que con el 15% de *F. macrophylla*. Esto se reflejó también en la eficiencia microbial, la cual fue mayor ($P<0.05$) con *C. calothyrsus* que con *F. macrophylla* en el nivel del 15%. La proporción de nitrógeno excretado en orina no varió ($P<0.05$) con el nivel de leguminosas taníferas en la dieta, pero fue menor ($P<0.05$) con el 15% de *C. calothyrsus* que con el 15% de *F. macrophylla*. La proporción de nitrógeno excretado en heces fue mayor ($P<0.001$) con el 15% de leguminosas taníferas en la dieta con respecto al control y no varió ($P>0.05$) entre especies. La proporción de nitrógeno aparentemente retenido no fue afectada ($P>0.05$) por la proporción de leguminosas taníferas en la dieta pero tendió ($P<0.1$) a ser mayor con el 15% de *C. calothyrsus* que con el 15% de *F. macrophylla*.

Tabla 1.6 Recuperación de nitrógeno dietario y eficiencia microbial en ovinos alimentados con una *gramínea* y *Caupí*, con *F. macrophylla* o *C. Calothyrsus*

Observaciones	Tratamientos*						Valor P Contrastes			
Ítem	T1	T2	T3	T4	T5	ESM	T2 vs T4	T3 vs T5	T1 vs T2,T4	T1 vs T3,T5
Flujo de N/N consumido (%)										
N de escape ruminal	63.8	66.5	69.1	53.4	75.1	3.622	0.017	0.260	0.397	0.074
Nitrógeno microbial	22.0	24.7	33.2	28.8	25.9	1.846	0.129	0.010	0.047	0.027
Flujo de nitrógeno microbial, g/kg MO aparente digerida	7.6	8.6	9.9	9.8	7.8	0.699	0.255	0.037	0.082	0.173
N en orina	38.1	35.6	32.4	36.5	42.3	2.639	0.810	0.014	0.544	0.824
Excreción Fecal de nitrógeno	37.1	40.1	45.6	36.2	43.7	1.635	0.104	0.435	0.624	0.001
N aparentemente retenido	24.7	24.2	21.9	27.1	13.8	3.264	0.522	0.093	0.805	0.101

*** Valores en paréntesis son las proporciones de forraje en la dieta consumida**

T1= Gramínea 55%(55%) + Caupí 45% (45%)

T2= Gramínea 55%(57%) + Caupí 30% (33%) + Calliandra 15%(10%)

T3= Gramínea 55%(67%) + Caupí 15% (18%) + Calliandra 30%(15%)

T4= Gramínea 55%(57%) + Caupí 30% (33%) + Flemingia 15%(10%)

T5= Gramínea 55%(67%) + Caupí 15% (18%) + Flemingia 30%(15%)

7.DISCUSIÓN

7.1.Calidad nutricional de la dieta basal (*Brachiaria humidicola* + Caupí)

Pasturas basadas en gramíneas nativas e introducidas representan una de las fuentes principales de alimentación para los rumiantes en los sistemas de producción en el trópico. La gramínea utilizada en este experimento (*Brachiaria humidicola*) ocurre naturalmente o ha sido introducida en pasturas mejoradas en muchas regiones tropicales en América, África y Asia. Una desventaja de *B humidicola*, como en otras gramíneas tropicales, es su bajo contenido de PC y alto contenido de fibra. En el presente estudio el contenido de PC fue de 6.4%, la DIVMS de 58.3% y los contenidos de FDN y FDA fueron de 81.0 y 42.5%, respectivamente. Esto coincide con lo reportado por otros autores (Quiñónez, 1996; Abreú et al 2004) para esta especie cultivada bajo condiciones similares. El contenido de PC encontrado en *B. humidicola* está en el límite (6-8%) bajo el cual el consumo voluntario del alimento puede reducirse a consecuencia de una deficiencia de N (Milford y Minson, 1965; Minson y Milford, 1967). El Caupí presentó un valor nutricional mayor con 19.2% de PC, DIVMS de 68.8% y contenidos de FDN y FDA de 59.9 y 30.3%, respectivamente. Estos valores son similares a los reportados por Mera (2004) para Caupí cultivado en la estación experimental de Santander de Quilichao.

Paladines y Leal (1979) así como Lascano *et al.* (1989) consideran la importancia de la asociación de leguminosas con gramíneas tropicales ya que representa una alternativa económica para mejorar la calidad de las pasturas y la productividad animal. Mosquera y Lascano (1992) indicaron que en las asociaciones gramíneas-leguminosas existe un mejor balance entre amonio liberado y energía disponible en el rumen, lo cual se traduce en una

utilización eficiente del forraje por las bacterias del rumen y consecuentemente en una mayor producción animal.

En este ensayo es importante mencionar que la principal ventaja del suministro de Caupí con mezcla de heno de *B.humidicola* comparado con dietas de gramínea sola, es el mayor consumo de nitrógeno que a su vez resulta en mayor disponibilidad de nitrógeno fermentable a nivel del rumen y en mayor flujo de nitrógeno microbial y total al duodeno, lo que concuerda con lo reportado por Abreú *et al.* (2004). La suplementación de una dieta basal de *B. humidicola* con follaje de *Cratylia argentea*, leguminosa arbustiva sin taninos, incrementó el consumo de nitrógeno en un 130%. Este aumento no solo se produjo por el mayor contenido de nitrógeno en la leguminosa, sino también por mayores consumos de forraje. Es evidente entonces, que el consumo de forrajes de baja calidad se puede mejorar suplementando leguminosas. De la misma manera, se encontró que la concentración de nitrógeno amoniacal en el rumen para la dieta basal utilizada presentó un alto valor nutricional y resultó en consumos altos de nitrógeno disponible a nivel ruminal, lo que se reflejó también en la concentración de nitrógeno amoniacal en el rumen. El valor observado con la dieta basal (14.6 mg/dL) fue mayor que los 2.4 mg/dL encontrados por Abreu *et al.* (2004) cuando utilizaron la dieta basal de solo gramínea. En este contexto también es importante mencionar los estudios realizados por Satter y Slyter (1974) los cuales sugieren que la concentración necesaria de nitrógeno amoniacal para maximizar la síntesis de proteína microbial *in vitro* es de 5 mg/dL. Aunque otros autores sugieren que para maximizar la fermentación ruminal se requieren niveles hasta de 20 mg/dL (Mehrez *et al.*, 1977), en el estudio de Abreu *et al.* (2004) se mostró claramente, que niveles de 2.5 a 5 mg/dL son suficientes en el caso de dietas basadas en gramíneas de baja calidad. Esto indica que los niveles de nitrógeno amoniacal en el presente experimento fueron suficientes para permitir una máxima degradación de fibra y eficiente

síntesis de proteína microbial y que el consumo y la digestibilidad no fueron limitados por deficiencia de nitrógeno fermentable en la dieta.

Contrario a la concentración de nitrógeno amoniacal, la concentración de AGV en el líquido ruminal fue menor en el presente estudio con Caupí que en el estudio de Abreu *et al.* (2004) con *C. argentea*. Esto es difícil de explicar porque ambas leguminosas presentan alta degradabilidad ruminal y por lo tanto deberían resultar en similares concentraciones de AGV. De la misma manera, en un estudio *in vitro* Stürm *et al.* (2006) también encontraron mayores producciones de AGV con *C. argentea* que con Caupí. En este mismo estudio los autores también reportan altas producción de AGV a partir de *B. humidicola* solo. Sin embargo hay que mencionar que las concentraciones de nitrógeno amoniacal en el líquido de fermentación fueron mayores a los 20 mg/dL.. Esto indica que las gramíneas representan una buena fuente de energía fermentable si esta adecuadamente suplementada con una fuente de proteína de alta degradabilidad como lo es el Caupí. Consecuentemente, Hess *et al.* (2006) reportan que el Caupí es una leguminosa valiosa como suplemento proteico para rumiantes alimentados con este tipo de gramíneas porque su inclusión en la dieta incrementa el suministro de proteína degradable sin disminuir la degradación de MS.

En el presente estudio las digestibilidades de MO, FDN y particularmente FDA en la dieta basal fueron más altas que en la dieta de gramínea sola reportada por Abreu *et al.* (2004). Cuando la gramínea se suplemento con *C. argentea* la digestibilidad de FDA se redujo. Estas diferencias entre estudios podrían estar relacionadas con la calidad de la gramínea utilizada (la cual fue menor en el estudio de Abreu *et al.*, 2004) y con el mayor contenido de lignina en *C. argentea* (17.5%) comparado con Caupí (6.4%).

La mayor parte del nitrógeno consumido se recuperó en el nitrógeno total y no amoniacal que llegó al duodeno, lo que concuerda con los resultados de Quiñónez (1996) y Abreu *et al.* (2004). Sin embargo, el alto flujo de nitrógeno

se debe más al escape de nitrógeno del rumen que al nitrógeno microbial que fue más bajo que el valor reportado por Abreu *et al.* (2004). Consecuentemente, es posible que el balance energía-proteína suministrado por la dieta basal no llenó los requerimientos para tener una alta producción de proteína microbial.

El nitrógeno excretado en heces y orina fue más alto que el encontrado por Fässler y Lascano (1995) cuando alimentaron ovinos con una dieta de solo gramínea. El mayor nitrógeno excretado en la orina se debió sobre todo al nitrógeno amoniacal adicional que se absorbió directamente del rumen, el cual, es llevado por la sangre hasta el hígado, donde es transformado en urea, siendo la mayor parte no utilizada por el animal y excretada en la orina. Si parte de este nitrógeno se protege de la degradación en el rumen mediante la combinación de Caupí con leguminosas con taninos esto podría resultar en una utilización más eficiente de nitrógeno y por ende en una mayor retención de nitrógeno y en una mayor producción animal.

7.2.Efecto del nivel de inclusión de leguminosas taníferas

El follaje de *Calliandra calothyrsus* y *Flemingia macrophylla* utilizado en este estudio presentó altos niveles de taninos condensados (29.1 y 11.4%, respectivamente). La inclusión de estas leguminosas en la dieta redujo los consumos diarios de nutrientes. Los valores más bajos para los consumos de MO, PC y FDN se encontraron con el 15% de leguminosa tanífera en la dieta. La digestibilidad aparente de MO, PC y FDA también se redujo cuando se incluyó el 15% de estas leguminosas en la dieta. Holmes y Wilson (1989) y Lascano (1988) afirman que la calidad de un forraje en gran medida determina el nivel de producción animal y que los componentes básicos de calidad son digestibilidad y consumo. De acuerdo a lo anterior, la inclusión de leguminosas taníferas redujo el valor nutricional de la dieta y este efecto fue más pronunciado con el 15% de inclusión que con el 10%. Esto se debe

probablemente a la formación de complejos indigeribles tanino-proteína y tanino-fibra (Mueller-Harvey, 1989), que disminuyen la digestibilidad de la materia orgánica, proteínas y carbohidratos (Reed *et al.* 1990). Por otra parte, la concentración de nitrógeno amoniacal en el rumen disminuyó con las mezclas que contenían *C. calothyrsus* y *F. macrophylla* y este efecto también fue más fuerte con el 15% que con el 10% de inclusión. Esta reducción se debe probablemente a la unión de los taninos a las proteínas y a la inhibición de las proteasas de los microorganismos en el rumen (Tanner *et al.* 1994). La suplementación con leguminosas taníferas no redujo la concentración total de AGV. Esto es sorprendente porque en un estudio *in vitro* Stürm *et al.* (2006) mostraron que la inclusión de *C. calothyrsus* o *F. macrophylla* en una dieta basada en *B. humidicola* y Caupí reduce la producción de AGV. Contrario a lo esperado la suplementación con leguminosas taníferas aumentó la concentración de isobutirato. El isobutirato es un producto de la degradación de ciertos aminoácidos y por lo tanto se hubiera esperado una disminución en la concentración de este ácido graso volátil y no un aumento. Las razones de esta contradicción no son conocidas.

Debido a la reducción en el consumo de forraje también se redujo el consumo de nitrógeno con la inclusión de las leguminosas taníferas en la dieta. Pero también fue evidente que el consumo fue mayor con el 10% que con el 15% de *C. calothyrsus* o *F. macrophylla* en la dieta. Lo que indica que leguminosas taníferas podrían reemplazar una parte de la leguminosa sin taninos en dietas mixtas, sin que se reduzca drásticamente el consumo de N y la digestibilidad de los nutrientes. Además la disminución de la degradación ruminal de los nutrientes no necesariamente es nociva para la nutrición animal porque leguminosas con taninos son fuentes potenciales de nutrientes sobrepasantes (Carulla 1994; Flores *et al.*, 1998) y niveles adecuados de taninos en la dieta protegen parte del nitrógeno de la

degradación ruminal y podrían favorecer su utilización más eficiente en el tracto posterior (Flores *et al.*, 1999).

De acuerdo a lo anterior, el flujo de nitrógeno total expresado como proporción del nitrógeno consumido tendió a ser mayor cuando se incluyó el nivel alto de leguminosas taníferas en la dieta. La relación entre el flujo de nitrógeno al duodeno y la concentración de taninos en la dieta se ilustra en la Figura 1. Se puede observar, que a medida que se incrementa la concentración de taninos en la dieta de 0 a 8.5 g/kg MS aumentó el flujo duodenal de N de 7.5 a 14.5 g por día.

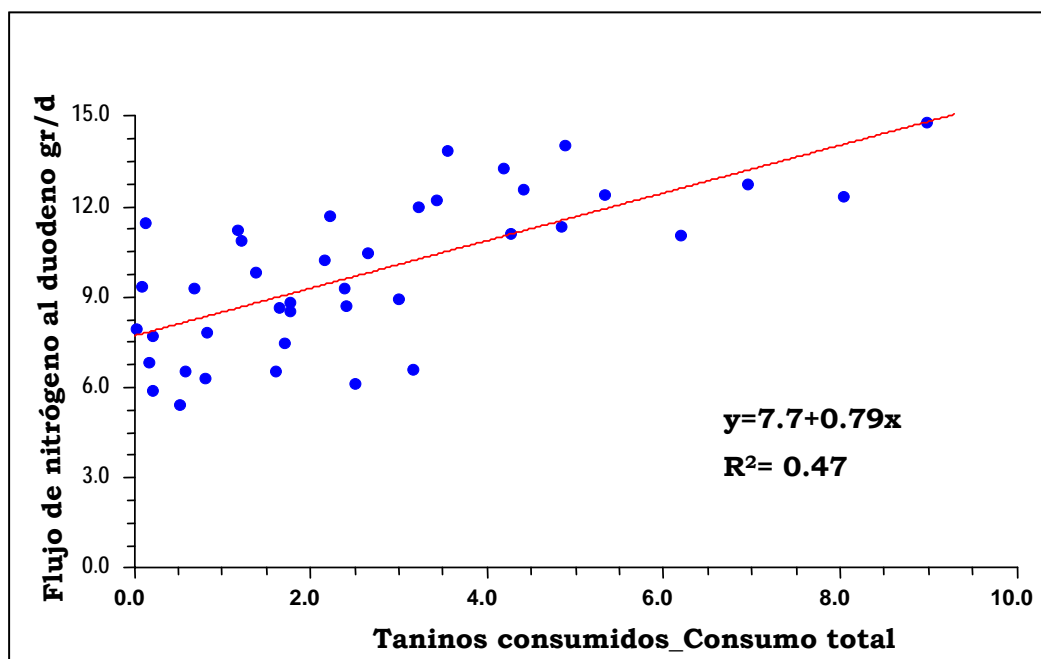


Figura 1. Relación entre flujo de nitrógeno al duodeno y taninos consumidos

A pesar de la menor degradación de proteína en el rumen y un mayor flujo de nitrógeno de escape, el flujo duodenal de nitrógeno microbiano no se redujo con la inclusión de las leguminosas taníferas. Esto concuerda con lo reportado por Min *et al.* (2003) quienes no encontraron ninguna relación entre el contenido de taninos en la dieta y el flujo de nitrógeno microbiano al duodeno. Además, el nitrógeno microbiano expresado como proporción del

nitrógeno consumido se incrementó con la suplementación con leguminosas taníferas, lo que indica que a nivel ruminal hubo mayor eficiencia en la utilización de nitrógeno.

Por otra parte, las excreciones de N en heces y orina tuvieron valores más bajos en los tratamientos con altos niveles de leguminosas taníferas. Siendo evidente que esta disminución fue principalmente el resultado del menor consumo de nitrógeno. Expresado como proporción del nitrógeno consumido, la excreción en orina no varió pero la proporción de nitrógeno excretado en las heces se incrementó con el mayor nivel de leguminosas taníferas en la dieta. Esta relación entre la excreción de nitrógeno en heces y el contenido de taninos en la dieta se observa en la Figura 2.

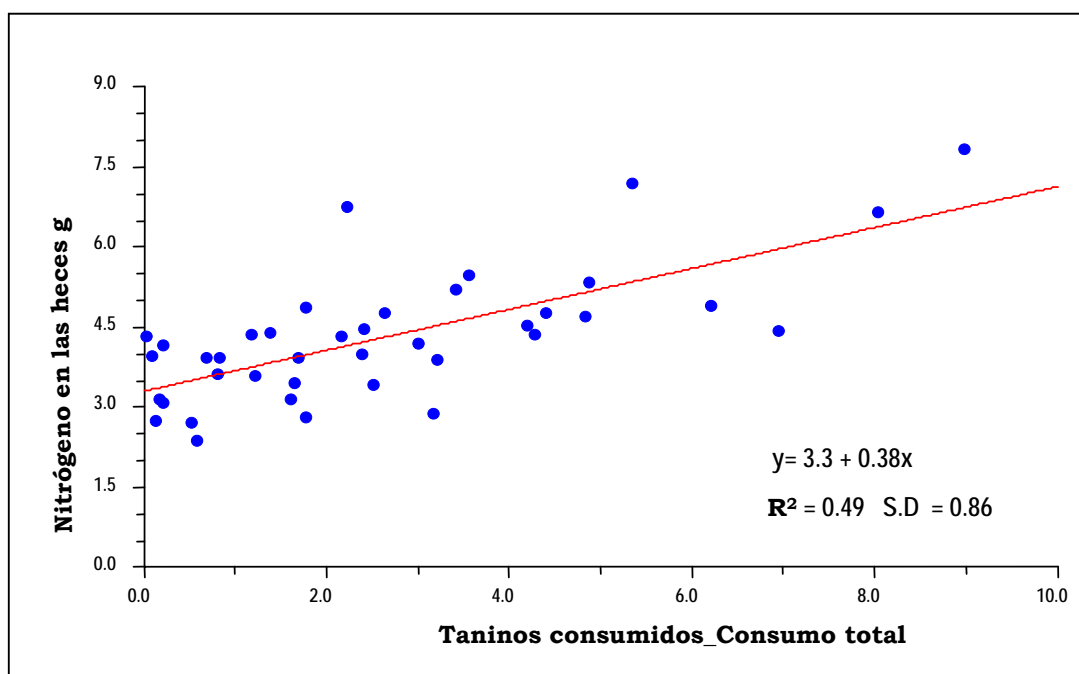


Figura 2. Relación entre nitrógeno en heces y taninos consumidos

A pesar de la menor degradación de la proteína en el rumen y mayor proporción de nitrógeno de escape llegando al duodeno, la absorción aparente de nitrógeno disminuyó y la retención de nitrógeno también tendió a disminuir con la inclusión del 15% de leguminosas taníferas. Esto indica

que parte de la proteína protegida por los taninos de la degradación ruminal, no es completamente disponible en el tracto digestivo posterior y es excretada en las heces. Por lo tanto, los resultados de este estudio demuestran que la inclusión de leguminosas taníferas, como *C. calothyrsus* o *F. macrophylla*, no mejora la utilización de nitrógeno por ovinos alimentados con una dieta basal de *B. humidicola* y Caupí. Por el contrario, cuando se ofrecen niveles altos de estas leguminosas, la utilización de nitrógeno tiende a desmejorar. Sin embargo, estos resultados también muestran que leguminosas sin taninos pueden ser reemplazadas parcialmente por leguminosas taníferas sin efectos negativos sobre la retención de nitrógeno.

7.3. Efecto de la Inclusión de la especie tanifera

Las dos especies taníferas utilizadas en el presente estudio fueron relativamente similares en su DIVMS y en sus contenidos de PC, FDN y FDA pero difirieron considerablemente en su contenido de taninos condensados. El follaje de *C. calothyrsus* presentó 29% de taninos condensados, mientras que *Flemingia macrophylla* fue de 11.4%. A pesar de estas diferencias en el contenido de taninos, los efectos que tuvieron las dos leguminosas sobre el consumo y la digestibilidad aparente de los nutrientes fueron similares. La única fue la digestibilidad de la FDN la cual fue mayor con el 15% de *C. calothyrsus* que con el 15% de *F. macrophylla*. Pero esto hay que interpretarlo con precaución por que la determinación de FDN en leguminosas con taninos y en heces de animales alimentados con este tipo de forrajes no es libre de error (Makkar *et al.*, 1995).

Cuando se suplementó con el 15% *F. macrophylla* los niveles de amonio ruminal fueron superiores a los obtenidos con *C. calothyrsus*. Esto sugiere que la leguminosa *F. macrophylla* fue menos efectiva que *C. calothyrsus* en proteger la proteína de la fermentación ruminal y podría estar relacionado con su menor contenido de taninos. Por otro lado, la concentración total de

AGV fue baja con esta leguminosa que con *C. calothyrsus*. Particularmente la concentración de acetato, el producto principal de la fermentación de la fibra, fue más baja con *F. macrophylla* que con *C. calothyrsus*. Estas diferencias entre especies no se pueden explicar con los contenidos contrastantes de taninos, ya que *C. calothyrsus* presentó mayor contenido que *F. macrophylla*, pero podrían estar relacionadas con diferencias en el tipo de taninos o en la calidad de la fibra.

El consumo de nitrógeno fue similar entre las leguminosas taníferas. Sin embargo, la suplementación con el 10% de *C. calothyrsus* resultó en un mayor flujo de nitrógeno de escape que la suplementación con el 10% de *F. macrophylla*, lo que podría estar relacionado con mayores contenidos de taninos en *C. calothyrsus*. Resultados de otros estudios (McSweeney *et al.*, 2001) indican que los efectos de los taninos de *C. calothyrsus* sobre la digestión ruminal, resultan principalmente de la formación de complejos con los nutrientes y no de la inhibición directa de los microorganismos. De acuerdo con esto, cuando se incluyó *C. calothyrsus* en la dieta no se disminuyó el flujo de nitrógeno microbial.

El nitrógeno excretado en la orina fue mayor con *F. macrophylla* que con *C. calothyrsus* en el nivel del 15%. Contrario a esto, el nitrógeno excretado en las heces fue mayor con la suplementación del 15% de *C. calothyrsus* que con el 15% de *F. macrophylla*. Estas diferencias en el patrón de excreción de nitrógeno entre las dos especies concuerdan bien con las diferencias en los niveles de amonio ruminal y están probablemente relacionadas con los contenidos contrastantes de taninos. Al aumentar el nivel de *F. macrophylla* en la dieta se redujo drásticamente la retención de nitrógeno mientras que con *C. calothyrsus* se mantuvo.

La eficiencia microbial fue mayor con el 15% de *C. calothyrsus* que con el 15% de *F. macrophylla*. También fue evidente, que a pesar de que hubo

mayor absorción de N con respecto al consumo en *Flemingia macrophylla* en su nivel del 10%, hubo una reducción drástica con el nivel de 15%.

Finalmente se puede decir que a pesar de que los niveles altos de taninos condensados en ambas leguminosas redujeron el consumo y la digestibilidad de los nutrientes, la utilización de nitrógeno por ovinos fue mejor cuando se incluyó *C. calothyrsus*.

8. CONCLUSIONES

La suplementación de una gramínea de baja calidad con una leguminosa de alta calidad como el Caupí resulta en mayor suministro de proteína degradable y en mayor flujo de proteína duodenal. La suplementación con Caupí aumenta la concentración de amoníaco en el líquido ruminal lo cual podría mejorar la degradabilidad de la fibra de la dieta basal.

La ingestión de leguminosas con taninos en mezcla con una leguminosa sin taninos redujo el consumo y la digestibilidad de MO y PC en ovinos alimentados con una dieta basal de gramínea de baja calidad. Por otra parte, el consumo de leguminosas con taninos en niveles bajos no afectó en forma significativa la utilización de nitrógeno. Sin embargo, niveles más altos tuvieron un efecto negativo. A medida que incrementó el nivel de taninos en la dieta, se redujo el nivel de amonio ruminal y se aumentó el flujo de nitrógeno al duodeno pero también la excreción de nitrógeno en heces, lo cual resultó en una disminución en la absorción y la retención de nitrógeno.

Se concluye que la inclusión de *C. calothyrsus* o *F. macrophylla* en las mezclas de leguminosas usadas para suplementar una gramínea de baja calidad no mejoró el consumo, la digestión o la utilización de nitrógeno como se esperaba. Sin embargo, estos resultados también muestran que cierta proporción de leguminosas de buena calidad puede reemplazarse por leguminosas taníferas en la dieta de rumiantes sin que se presenten efectos negativos en la fermentación ruminal o en la utilización de nitrógeno.

Las diferencias entre las dos leguminosas taníferas en la composición química y el contenido de taninos resultaron en efectos contrastantes sobre la fermentación ruminal y la utilización de nitrógeno. La suplementación con

el 15% de *C. calothyrsus* resultó en menos nitrógeno amoniacal, mayor síntesis de proteína microbial, menor excreción de nitrógeno en orina y mayor proporción de nitrógeno retenido, además de incrementar la producción de AGV con respecto a la suplementación con el 15% de *Flemingia macrophylla*.

9. REFERENCIAS

- ABREU, A., CARULLA, J.E., LASCANO, C.E., DÍAZ, T.E., KREUZER, M. Y HESS, H.D., 2004. Effects of *Sapindus saponaria* fruits on ruminal fermentation and duodenal nitrogen flow of sheep fed a tropical grass diet with and without legume. *Journal of Animal Science*, 82: 1392-1400.
- AGRAWAL, P.K., BANSAL, M.C., PORTER L.J. Y FOO, L.Y., 1989. Carbon 13-NMR of flavonoids. Elsevier Amsterdam, 432 pp.
- ANURAGA, M., DURAZA, P., HILL, M.J. Y LOVETT, J.V. (1993). Soil moisture and temperature affect condensed tannin concentration and growth in *Lotus corniculatus* and *lotus pedunculatus*. *Aust. J. Agric. Res.* 44: 1967-1681.
- ARGEL, P.J. Y MAASS, B.L (1995). Evaluación y adaptación de leguminosas Arbustivas en suelos ácidos e infértiles de América tropical. En: Evans, D.O. y Szott Lawrence, T. (eds). *Nitrogen fixing tree for acid soils*. Turrialba, Costa Rica. NFTA y CATIE. P. 215-236
- AOAC (1975) 'Official Methods of Analysis 12th edn.' (Association of Analytical Chemists International: Washington, D.C.)
- BALCH C.C. Y COWIE A.T. 1962. Permanent rumen fistulae in cattle. *Cornell Veterinary*, 52:206.
- BARAHONA, R (1995). Condensed tannins in tow tropincal legumes: concentration, astringency and efects on ovines nutrition.
- BARAHONA, R., LASCANO, C.E., COCHRAN, R., MORRILL, J. Y TITGEMEYER E.C., (1997). Intake, digestion, and nitrogen utilization by sheep fed tropical legumes with contrasting tannin concentration and astringency. *Journal of Animal Science* 75: 1633-1640.

BARRY, T. N., (1985). The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 3: Rates of body and wool growth. British Journal of Nutrition, 54: 211-217.

BARRY, T. N. Y DUNCAN, S. J., (1984). The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 1: Voluntary intake. British Journal of Nutrition, 51: 485-491.

BUTLER, L.G., (1989). New perspectives on the antinutritional effects of tannins. In Kinsella, J.E. y Soucie, W.B. (eds). Food Products. American Oil Chemist Society. Champaign, Illinois, USA, pp. 402-409.

CADAVID, J.V.(1996). Aspectos económicos de sistemas de producción ganadera. En: Seminario internacional "Alimentación convencional y no convencional para ganado bovino", ASOGANORTE, Barranquilla, Mayo 17-18 de 1996.

CARULLA J.E (1994). Forage intake and N utilization by sheep as affected by condensed tannins. Tesis PhD. Enuversity of Nebraska, Lincoln, E.U.

CATIE, CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSAYO (1991) La Calliandra (*Calliandra Calothyrsus*); una especie forestal de uso múltiple. Proyecto cultivo de arboles de uso Múltiple. Colección de Materiales de extensión. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 6p

CANO R, CARULLA JE, Y LASCANO C.E (1994). Metodos de conservación de muestras de forraje de leguminosas tropicales y su efecto en el nivel y la actividad biológica de los taninos. Pasturas Trop. 16(1):2-7.

CENTRO INTERNACIONAL DE INFORMACIÓN SOBRE CULTIVOS DE COBERTURA, (2004). Tegucigalpa. Citado de la página: <http://www.cidicco.hn/alacin.htm>.

CORPOICA, (2004). Manejo integrado del mión de los pastos en la Región Caribe Colombiana. Citado de la página http://www.Turipana.Org.co/miön_pastos.htm. Consultado Marzo de 2004.

CLAVERO, T. 1996, Leguminosas forrajeras arbóreas en la Agricultura Tropical. Centro de Transferencia de Tecnología en Pastos y Forrajes, de la Universidad del Zulia, Maracaibo – Venezuela.

DELGADO, C., ROSEGRANT, M., STEINFELD, H., EHUI, S. Y CORBOIS, C. (1999). Livestock to 2020: the next food revolution. Food, Agriculture and the Environment. Discussion paper 28. IFPRI, Washington, DC, USA.

DRIEDGER, A. Y HATFIELD, E.E. (1972). Influence of tannins on the nutritive value of soybean meal for ruminants. Journal of Animal Science, 34: 465-468.

DONNELLY, E.D. (1959). The Effect of season, plant maturity and height on the tannin content of *Sericea Lespedeza*, *L. cuneata*. Agrom. J. 51: 71-73

DOMINGUEZ BELLO M.G, ESCOBAR A (1997). Rumen manipulation for the improved utilization of tropical forages. Animal Feed Science and Technology 69, 91-102.

FAHEY, JR. G.C. Y JUNG, H.J.G. (1989). Phenolic compounds in forages and fibrous feedstuffs. En: Cheeke, P.R. (ed). Toxicants of plant origin. Vol IV. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 123 pp.

FAO. (1999). Production yearbook, 53. Rome, Italy. Food and Agricultural Organization of the United Nations.

FAO.(2002).
(<http://apps.fao.org/page/form?collection=Production.Livestock.Stocks&Do>
[main=Production&servlet=1&language=EN&hostname=apps.fao.org&version=](http://apps.fao.org/page/form?collection=Production.Livestock.Stocks&Do)

[default](#)). En: FAO.STAT > Agriculture data > live animals. Consultado Marzo de (2003).

FAO, (2004). Sistemas de información de los Recursos del pienso. Citado de la página web:

<http://www.fao.org/livestock/agap/frg/afris/espanol/document/tfeed8/Dat a/469> Consultado febrero de 2004.

FALES, S.L. (1984). Influence of temperature of chemical composition and *in vitro* dry matter disappearance of normal- and low- tannin *Sericea lespedeza*. Can. J. Plant Sci. 64: 637-642

FÄSSLER OM, AND LASCANO CE (1995). The effect of mixtures of sun-dried tropical shrub legumes on intake and nitrogen balance by sheep. Tropical Grasslands, 29, 92-96.

FEDEGAN (2005). Disponible en World Wide Web: fedegan.org.co Consultado Junio de 2005.

FLORES, O.I., BOLIVAR, D.M., BOTERO, J.A Y IBRAHIM, M.A., (1998). Parámetros nutricionales de algunas arbóreas leguminosas y no leguminosas con potencial forrajero para la suplementación de rumiantes en el trópico. Livestock Research for Rural Development. Centro Agronómico Tropical de Investigación y enseñanza. (CATIE). Turrialba, Costa Rica.

FLORES, O.I., IBRAHIM, M.A., KASS, D., ANDRADE, H., (1999). El efecto de los taninos de especies leñosas forrajeras sobre la utilización de nitrógeno por bovinos. Agroforestería en las Américas, 6 (23):Centro Agronómico Tropical de Investigación y enseñanza(CATIE), Turrialba, Costa Rica.

FOO, L.Y., JONES, W.T.,PORTER, L.J. y WILLIAMNS, V.M. 1982. Proantocyanidin polymers of fodder legumes. *Phytochemistry* 21: 933 - 935

HART F.J. Y J. LEIBHOLZ. 1990. A note on the flow of endogenous protein to the omasum and abomasum of steers. *Animal Production*, 51:217.

HASLAM, E., 1989. Plant poliphenols. *Vegetable Tannins Revisited*. Cambridge University Press. Cambridge.

HASLAM, E. Y CAI, T., (1994). Plant polyphenols (Vegetable Tannins): Gallic acid metabolism. *Natural Products Report*, 15: 41-66.

HAGERMAN, A.E., (1989). Chemistry of tannin-protein complexation. En: Hemingway, R.W y Karchesy, J.J (eds). *Chemistry and significance of condensed Tannins*. Plenum Press. New York. pp 323-334.

HESS, H.D., BEURET, R.A., LÖTSCHER, M., HINDRICHSEN, I.K., MACHMÜLLER, A., CARULLA, J.E., LASCANO, C.E. Y KREUZER, M., (2004A). Ruminal fermentation, methanogenesis and nitrogen utilization of sheep receiving tropical grass hay-concentrate diets offered with *Sapindus saponaria* fruits and *Cratylia argentea* foliage. *Animal Science*, 79: 177-189.

HESS, H.D., MONSALVE, L.M., LASCANO, C.E., CARULLA, J.E., DÍAZ, T.E. Y KREUZER, M., 2003. Supplementation of a tropical grass diet with forage legumes and *Sapindus saponaria* fruits: effects on in Vitro ruminal nitrogen turnover and methanogenesis. *Australian Journal of Agricultural Research*, 54: 703-713.

HESS, D., KREUZER, M., NÖSBERGER, J., WENK, C. Y LASCANO, C.E., (2002). Effect of sward attributes on legume selection by esophageal-fistulated and non-fistulated steers grazing a tropical grass-legume pasture. *Tropical Grasslands*, 36: 227-238.

HESS, D., LASCANO, C.E. Y PLAZAS, C., (1992). Niveles de amonio ruminal en novillos que pastorean gramíneas solas o asociadas con leguminosas de calidad nutritiva contrastante. *Pasturas tropicales*, 14 (3): 9-13.

HOLMES, C. Y WILSON, G., 1989. Nutrición, clasificación y utilización de nutrientes. Producción de leche en praderas. Editorial. Acribia, p. 127-151.

ICA. Villavicencio (1987). Informe Programa de Pastos y Forrajes 1982-1987 Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), La Libertad, Villavicencio (Meta), Colombia.

ISIDOR, M. 1996. Observaciones y experiencias en el comportamiento productivo de ganado de leche y/o carne consumiendo leguminosas. En: Leguminosas forrajeras arbóreas en la agricultura tropical (ed) Calvero, T. Universidad del Zulia, Maracaibo -p Venezuela. 67-78 p.

JACKSON, F.S., BARRY, T.N., LASCANO, C.E Y PALMER, B. 1996. The extractable and bound condensed tannin content of leaves from tropical tree, shrub and forage legumes. *J. Sci. Food Agric.* 71: 103-110

JOHN, A. Y LANCASHIRE, J.A. 1981. Aspects of the feeding and nutritive value of Lotus species. *Proc. New Zeal. Soci. Animal Prod.* 45: 125-127

JONES, W.T. Y MANGAN, J.L. (1977). Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis vicifolia* Scop.) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28:126-136.

KUMAR R, AND D'MELLO JPF (1995) Anti-nutritional factors in forage legumes. In: D'Mello J.P.F., and Devendra, C. (eds.), *Tropical Legumes in Animal Nutrition*. CAB International, Wallingford, UK, 191-230.

KUMAR, R. Y HORGOME, T., 1986. Fractionation, characterization and protein precipitating capacity of the condensed tannins from *Robibi pseudoacacia* leaves. *Journal of agricultural and food chem.* 34: 487-489.

LASCANO, C. Y AVILA, P. (1991). Animal production of pastures based on *Centrosema* spp. in the Eastern plains of Colombia. *Proceedings of the XVI*

International Grassland Congress, Nice, France. pp 1177-1178.

LASCANO, C., (1988). Calidad de pasturas y nutrición. Programa de capacitación científica en investigación para la producción y utilización de pastos tropicales. CIAT.

LEES, G.L., GRUBER, M. Y. Y SUTTILL, N.H. 1995. Condensed tannins in sainfoin. II. Occurrence and changes during leaf development. *Can. J. Botany* 73: 1540-1547.

LEES, G.L., HINKS, C.F., Y SUTTILL, N.H. 1994. Effect of temperature of condensed tannin accumulation in leaf tissues of big trefoil (*Lotus uliginosus* Schkuhr). *J. Sci. Food Agric.* 65: 415-421.

LENG RA (1991) Feeding strategies for improving milk production of dairy animals managed by small-farmers in the tropics. In: Speedy A., and Sansoucy, R. (eds.), Feeding Dairy Cows in the Tropics. FAO Animal Production and Health Paper 86, Rome, 82-104.

LENG R.A (1990) Factors affecting the utilization of 'poor-quality' forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutrition Research Reviews* 3, 277-303.

LEWIS, N.G Y YAMAMOTO, E., 1989. Tannins: Their place in plant, metabolism. En: Hemingway and Karchesy. Chemistry and Significance of Condensed Tannins. Plenum Press. New York. Pp 23-46.

LOWTHER, W.L., MANLEY, T.R., Y BARRY, T.N. 1987. Condensed tannin concentration in *Lotus corniculatus* and *L. pedunculatus* cultivars grown under low soil fertility conditions. *New Zeal. Agric. Res.* 30: 23-25.

MACQUEEN, D.J. (1992). *Calliandra calothyrsus*: Implications of plant taxonomy, ecology and biology for seed collection. Commonwealth Forestry Review, 71 (1):20-34

McCULLOUGH H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by direct colorimetric method. *Clinical Chemistry Acta*, 17:297.

MAKKAR, H.P.S., BOROWY, N.K., BECKER, K. Y DEGEN A., 1995. Some problems in fibre determination of a tannin-rich forage (*Acacia saligna* leaves) and their implication in vivo studies. *Animal Feed Science and Technology*, 55: 67-76.

MCD STÜRM, C.D., TIEMANN, T.T., LASCANO, C.E., KREUZER, M. Y HESS, H.D., 2006. Nutrient composition and *in vitro* ruminal fermentation of tropical legume mixtures with contrasting tannin contents. *Animal Feed Science and Technology*, doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.11.008

MCSWEENEY, C.S., PALMER, B., BUNCH, R. Y KRAUSE, D.O., (2001). Effect of the tropical forage Calliandra on microbial protein synthesis and ecology in the rumen. *Journal of Applied Microbiology*, 90: 78-88.

MERA, M.L., (2004). Efecto de leguminosas forrajeras tropicales ricas en taninos sobre la fermentación ruminal y la producción de metano en un sistema *in vitro* (Rusitec). Universidad Nacional de Colombia. Palmira –Valle.

MEHREZ, A.Z., ØRSKOV, E.R. Y MCDONALD, I., 1977. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. *British Journal of Nutrition*, 38: 437-443.

MITJAVILA, S., 1977. Tannic acid and oxidized tannic acid on the functional state of rat intestinal epithelium. *Journal of Nutrition*, 107: 2113-21210.

MILFORD, R. Y MINSON, D.J., 1965. Intake of tropical pasture species. *Proceedings of the IXth International Grassland Congress, Sao Paulo, Brazil*. p. 815.

MILLER, P.R. Y EHLKE, N.J., 1994. Condensed tannins relationships with *in vitro* forage quality analyses for birdsfoot trefoil. *Crop Science*, 34: 1074-1079.

MINSON D.J. 1990. Forage in ruminant nutrition. Academic Press, Inc., London, UK.

MINSON DJ, MILFORD R., (1967). The voluntary intake and digestibility of diets containing different proportions of legume and mature Pangola grass (*Digitaria decumbens*). *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* 7, 546-551.

MIN, B.R., BARRY, T.N., ATTWOOD, G.T. Y MCNABB, W.C., 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Animal feed Science and Technology*, 106: 3-19.

MONSALVE, L., 2003. Suplementación de una gramínea tropical con leguminosas y *Sapindus saponaria*: Efecto sobre la fermentación ruminal y la metanogénesis *in vitro*. Tesis de grado. Universidad de Santa Rosa de Cabal, Risaralda, Colombia. 96 pp.

MOSQUERA, P. Y LASCANO, C., 1992. Producción de leche en vacas en pastoreo de *Brachiaria decumbens* solo y con acceso controlado a bancos de proteína. Tesis. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Palmira. 59 pp.

MOORE J.E. Y MOTT G.O. 1974. Recovery of residual organic matter from *in vitro* digestion of forages. *Journal of Dairy Science*, 57:1258-1259.

MUELLER-HARVEY, I. Y MCALLAN, A.B. (1992). Tannins their biochemistry and nutritional properties. *Advances in Plant Cell Biochemistry and Biotechnology*, 1:151-217.

PAVÓN, P. Y HERNANDO, A. (1985). Algunos factores que influyen en la germinación del pasto *Brachiaria dictyoneura*. En: Semillas de Colombia V 10, No 4. p. 10-18

PALADINES O, LEAL JA (1979). Pasture management and productivity in the Llanos Orientales of Colombia. In 'Pasture Production in Acid Soils of the Tropics. Proceedings of a Seminar held at CIAT'. (Eds PA Sanchez and LE Tergas) pp. 311-325. (Centro Internacional de Agricultura Tropical: Cali, Colombia)

PALMER B, MACQUEEN DJ, GUTTERIDGE RC (1994). *Calliandra calothyrsus* – a multipurpose tree legume for humid tropics. In 'Forage tree legumes in tropical agriculture'. (Eds RC Gutteridge and HM Shelton) pp. 65-74. (CAB International: Oxon, UK).

PALMER, B. IBRAHIM, M.T. 1996. *Calliandra calothyrsus*, forage for the tropics – a current assessment.

PALMER B, SCHLINK AC (1992) The effect of drying on the intake and rate of digestion of the shrub legume *Calliandra calothyrsus*. *Tropical Grasslands* 26, 89-93.

PERDOMO P (1991). Adaptación edáfica y valor nutritivo de 25 especies y accesiones de leguminosas arbóreas y arbustivas en dos suelos contrastantes. Trabajo dirigido de grado en Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Palmira. 127 p.

PETERS J, LEEDLE J, AND PAULISSEN (1989). Factors affecting the in vitro production of VFA by mixed bacterial population from the bovine rumen. *Journal of Animal Science*, 67:1593-1602.

PETERS, M., FRANCO, L.H., SCHMIDT, A. E HINCAPIÉ, B., (2003). Especies forrajeras multipropósito: Opciones para productores de Centroamérica. Publicación CIAT No 333. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. 113 pp.

PETERS, M., FRANCO, L.H., SCHMIDT, A. E HINCAPIÉ, B., (2006). Especies forrajeras multipropósito. Proyecto Forrajes Tropicales. Publicación CIAT Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.

PRESTON, T.R. 1976. Prospects for, intensifications of cattle production in developing countries, in: Smith, A.J. (ed) Beet Cattle Production in developing countries. University of. Edinburgh press, Escocia 242-257p.

PRESTON, T.R. 1987b. Nuevas bases para la producción animal en el Trópico. En: Sánchez, H. Y Casas, I. (ed). Universidad Nacional de Colombia.

PRIMER TALLER TANINOS EN LA NUTRICIÓN DE RUMINATES EN COLOMBIA (2004). Centro Internacional de Agricultura tropical Cali-Colombia 2004. 28-29.

RUIZ, T.E.; FEBLES, G.; JORDAN, H. Y CASTILLO, E. 1996. El género *Leucaena* como una opción para el mejoramiento de la ganadería en el trópico y subtrópico. En: leguminosas forrajeras arbóreas en la agricultura tropical (ed) Clavero, T. Universidad del Zulia, Maracaibo – Venezuela 11-16.

QUIÑÓNEZ, T.W., (1996). Efecto de suplementación con *Cratylia argentea* en la utilización por ovinos de un heno de gramínea de baja calidad. Tesis de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira.

RAAFLAUB M, LASCANO CE (1995). The effect of wilting and drying on intake rate and acceptability by sheep of the shrub legume *Cratylia argentea*. *Tropical Grasslands* 29, 97-101.

REED, J. D; SOLLER, H. & WOODWARD, A., 1990. Fodder tree and straw diets for sheep: intake, growth, digestibility and the effects of phenolics on nitrogen utilization. *Animal Feed Science and Technology*, 30: 39-50.

RITTNER, U. Y REED, J.D., 1992. Phenolics and *in vitro* degradability of protein and fiber in west African browse. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 58: 21-28.

RIVAS, L. (1995). Los sistemas de producción ganadera en Colombia: Evolución y perspectivas, CIAT (Centro internacional de agricultura tropical), Unidad de estudios de impacto. Cali-Colombia.

ROBERSTON, B.M. 1988. The nutritive value of five browse fed as supplements to goats offered basal rice straw diet. Master of Agricultural Studies Thesis. The University of Queensland, Australia.

SALINAS, J.G Y LASCANO, C.E. (1982). La fertilización con S mejora la localidad de *Desmodium ovalifolium*. Pasturas Tropicales - Boletín Informativo 5: 1-6.

SATTER, L.D. Y SLYTER, L.L., (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. British Journal of Nutrition, 32: 199-208.

SCHULTZE – KRAFT, R; CLEMENTS, R.J. Y KELLER – GREIN, G. (1997), Centrosema: Biología, Agronomía y Utilización. CIAT No. 208 – 716 p.

SARKAR, S.H., HORVARTH, R.E. Y GOPLEN, B.P., 1976. Condensed tannins in herbaceous legumes. Crop Science, 16: 543-546.

STREETER M.N., BARRON S.J., WAGNER D.G., HIBBERD C.A., OWENS F.N. Y MCCOLLUM F.T. 1991. Technical note: A double L intestinal cannula for cattle. Journal of Animal Science, 69:2601-2607.

STÜRM, C.D., TIEMANN, T.T., LASCANO, C.E., KREUZER, M. Y HESS, H.D., 2006. Nutrient composition and *in vitro* ruminal fermentation of tropical legume mixtures with contrasting tannin contents. Animal Feed Science and Technology, doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.11.008

TANNER, G. J; MOORE, A. E. Y LARKIN, P. J., 1994. Proanthocyanidins inhibit hydrolysis of leaf proteins by rumen microflora in vitro. *British Journal of Nutrition.*, 71(6):947-958.

TERRILL, T.H., ROWAN, A.M., DOUGLAS, G.B. Y BARRY, T.N., (1992). Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58:321-329.

TERRILL, T.H., WINDHAN, W.R., HOVELAND, C.S. Y AMOS, H.T., (1989). Forage preservation method influences on tannin concentration, intake, and digestibility of *Sericeu lespedeza* by sheep. *Agronomy Journal*, 81:435-439.

TILLEY J.M.A. Y TERRY R. 1963. A two-stage technique for *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, 18:104-111.

TIEMANN, T.T.,(2006). Efecto de localidad y nivel de fertilización en la producción de biomasa de leguminosas arbustivas. Segundo Taller de Taninos en la Nutrición de Rumiantes. Universidad Nacional de Colombia-Bogota. pp 4-6

UDEN P., COLUCCI P.E. Y VAN SOEST P.J. 1980. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of pasaje studies. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 31:625-632.

VALENCIA, L., (2003). Efecto de la mezcla de leguminosas tropicales en relación con la presencia de taninos y emisiones de metano en un sistema *in vitro* (RUSITEC). Tesis de maestría en producción animal. Universidad Nacional de Colombia. Palmira. 99 pp.

VAN SOEST PJ, ROBERTSON JB, LEWIS BA (1991). Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74, 3583-3597.

WAGHORN, G.C., JHON, A., JONES. W.T. Y SHELTON, I.D., (1987). Nutritive value of *Lotus corniculatus* containing low and medium concentrations of condensed tannins for sheep. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 47: 25-30.

WALLER J., MERCHEN N., HANSON T. Y KLOPFENSTEIN T. 1980. Effect of sampling intervals and digest markers on abomasal flow determinations. *Journal of Animal Science*, 50:1112.

ZINN RA, AND OWENS FN (1986). A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. *Can. J. Anim. Sci.* 66:157-166.

ANEXO

COLECCIÓN ORINA



COLECCIÓN HECES



COLECCIÓN DE LIQUIDO DUODENAL



COLECCION DE LIQUIDO RUMINAL

