

## ARTÍCULO CIENTÍFICO

## Cinética de fermentación *in vitro* de *Leucaena leucocephala* y *Megathyrus maximus* y sus mezclas, con o sin suplementación energética

### *In vitro fermentation kinetics of Leucaena leucocephala and Megathyrus maximus and their mixtures, with or without energy supplementation*

Xiomara Gaviria<sup>1</sup>, J. F. Naranjo<sup>2</sup> y R. Barahona<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias,  
Universidad Nacional de Colombia  
Calle 59A No. 63-20 Medellín, Colombia - Núcleo El Volador  
Medellín - Colombia

<sup>2</sup>Grupo INCA-CES Universidad CES, Medellín, Colombia  
Correo electrónico: xiomygaviria@gmail.com

**RESUMEN:** Con el objetivo de caracterizar la cinética de fermentación *in vitro* de mezclas de *Leucaena leucocephala* y *Megathyrus maximus*, se realizó un experimento *in vitro* de producción de gas en el que se incluyeron cinco tratamientos: 100 % de *L. leucocephala* (L100), 100 % de *M. maximus* (G100), 100 % de suplemento a base de harina de arroz y melaza (S100), y dos proporciones: L23-G77 y L26-G70-S4. Los forrajes se recolectaron durante ocho meses en un sistema silvopastoral intensivo (SSPi), perteneciente al Centro Agropecuario Cotové de la Universidad Nacional de Colombia. La producción máxima de gas varió en un rango de 156 (L100) a 247 mL g<sup>-1</sup> sustrato (L26-G70-S4). El menor volumen de gas al punto de inflexión (57,5 mL) se observó en L100, el cual fue diferente al de las mezclas y el suplemento ( $p < 0,05$ ). La desaparición de la MS a las 96 h varió entre 53,8 % y 66,9 %, y fue mayor en L100 que en el resto de los tratamientos ( $p < 0,05$ ). El menor valor de la producción de gas (1,31 mL) por cada gramo de MS, fermentada a las 96 h, se observó en L100 ( $p < 0,05$ ). Los resultados sugieren que la inclusión de leucaena aumentó la concentración de proteína de la dieta y redujo el contenido de FDN, lo que resulta positivo desde el punto de vista de la productividad animal. Se concluye que la utilización de forrajes de mayor calidad nutricional, como el de leucaena, modifica el perfil de fermentación de la dieta; por lo que la respuesta de las mezclas forraje-gramínea es diferente a la esperada, ya que depende de la respuesta individual de cada forraje.

*Palabras clave:* gases, productividad animal, sistemas silvopascícolas

**ABSTRACT:** In order to characterize the *in vitro* fermentation kinetics of *Leucaena leucocephala* and *Megathyrus maximus* mixtures, an *in vitro* gas production trial was conducted in which five treatments were included: 100 % of *L. leucocephala* (L100), 100 % of *M. maximus* (G100), 100 % of supplement based on rice meal and molasses (S100), and two proportions: L23-G77 and L26-G70-S4. The forages were collected during eight months in an intensive silvopastoral system (SSPi), belonging to the Agricultural Center Cotové of the National University of Colombia. The maximum gas production varied in a range of 156 (L100) to 247 mL g<sup>-1</sup> substratum (L26-G70-S4). The lowest gas volume at the inflection point (57,5 mL) was observed in L100, which was different from the mixtures and the supplement ( $p < 0,05$ ). The disappearance of the DM at 96 h varied between 53,8 % and 66,9 %, and it was higher in L100 than in the other treatments ( $p < 0,05$ ). The lowest gas production value (1,31 mL) for each gram of DM, fermented at 96 h, was observed in L100 ( $p < 0,05$ ). The results suggest that the inclusion of leucaena increased the concentration of protein in the diet and reduced the NDF content, which is positive from the point of view of animal productivity. It is concluded that the utilization of higher nutritional quality forages, such as that of leucaena, modifies the fermentation profile of the diet; for which the response of the forage-grass mixtures is different from the expected one, because it depends on the individual response of each forage.

*Key words:* animal productivity, gases, silvopastoral systems

## INTRODUCCIÓN

Los forrajes tropicales poseen, comúnmente, altos contenidos de pared celular y bajos contenidos de carbohidratos solubles (Juárez y Pell, 1999), y, en general, su conversión en productos de origen animal no es muy eficiente (Barahona y Sánchez, 2005). Solo entre 10 y 35 % de la energía consumida es capturada como energía neta, debido a que entre 20 y 70 % de la celulosa no puede ser digerida por el animal. Por otra parte, se requieren 12,8 g de N kg<sup>-1</sup> MS en la dieta para garantizar el buen funcionamiento del rumen; por lo que, según las características de los forrajes del trópico bajo, es necesario suplementar con N para cubrir los requerimientos de los bovinos. Se considera como suplemento proteínico cualquier alimento que contenga más de 16 g de N kg<sup>-1</sup> de MS (CSIRO, 2007), y algunas leguminosas forrajeras cumplen con este requisito. Por ejemplo, la leucaena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) contiene entre 25 y 35 g de N kg<sup>-1</sup> de MS (Barahona *et al.*, 2003; Rodríguez y Fondevila, 2009; Cuartas *et al.*, 2014b); sin embargo, debido a su contenido de fibra, se clasifica como un forraje voluminoso.

Con el propósito de alcanzar una mayor eficiencia y productividad en la ganadería han recibido gran atención los sistemas silvopastoriles, especialmente los denominados intensivos (SSPi). Estos se caracterizan por presentar altas densidades de arbustos forrajeros (más de 10 000 ha<sup>-1</sup>), como la leucaena, y las asociaciones con pastos mejorados han mostrado ser las de mayor perspectiva (Tarazona *et al.*, 2013). En los SSPi se han reportado producciones de hasta 28 t de MS ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> de biomasa (Naranjo *et al.*, 2012), con un alto contenido de proteína y energía, lo que ha permitido una alta carga animal y una elevada producción de leche y carne por hectárea. Sin embargo, aunque el consumo de proteína a partir de un SSPi es adecuado para la mayoría de los estados fisiológicos de los rumiantes, el contenido de fibra en esa dieta (al menos el 60 % de fibra en detergente neutro -FDN-, según lo informado por Gaviria *et al.*, 2012) podría limitar la productividad animal si no es degradada eficientemente en el rumen.

Teniendo en cuenta lo anterior, resulta importante estudiar la dinámica fermentativa de los forrajes que componen los SSPi con leucaena, para determinar los patrones de fermentación de N y energía en el rumen, con el fin de conocer si se encuentran en equilibrio o si es necesario sugerir ajustes o adiciones a la dieta de los animales que

pastorean en dicho sistema. El objetivo del presente estudio fue caracterizar la cinética de fermentación *in vitro* de mezclas de forrajes de *L. leucocephala* y *Megathyrsus maximus*, recolectados en sistemas silvopastoriles.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Sustratos evaluados y caracterización bromatológica.** Los forrajes se recolectaron en el Centro Agropecuario Cotové, vereda El Espinal (municipio Santa Fé de Antioquia), a 74 km de distancia de Medellín, el cual está ubicado en una zona de vida de bosque seco tropical (bs-T), a una altura de 540 msnm, con una temperatura promedio de 27 °C y una precipitación de 1 100 mm por año.

Estos forrajes provenían de lotes de un SSPi de 18 meses de edad, conformado por arbustos de *L. leucocephala*, pasto guinea (*M. maximus*) y una pequeña proporción (menos del 5 % de la oferta total de biomasa) de pasto estrella (*Cynodon plectostachyus*), con una edad promedio de 50 días de rebrote; los cuales fueron pastoreados por novillos cebuinos durante ocho meses, en un experimento de consumo y selectividad en pastoreo (Gaviria *et al.*, 2014). A los efectos del presente experimento, los forrajes evaluados (*L. leucocephala* y *M. maximus*) corresponden a una mezcla homogénea de tres submuestras recolectadas en distintos momentos, a lo largo de dicho periodo de pastoreo; no se incluyó *C. plectostachyus*, debido a su baja presencia en el SSPi. Adicionalmente, se suministró una muestra de un suplemento basado en harina de arroz y melaza (70 y 30 %, respectivamente), solo a la mitad de los novillos durante el periodo de pastoreo, con el propósito de determinar el efecto de la adición de una materia prima de naturaleza fermentativa diferente a la de los forrajes del SSPi.

Los análisis bromatológicos de los forrajes y las materias primas se realizaron a las tres submuestras de forraje y a la muestra de suplemento, en el laboratorio de análisis químico y bromatológico de la Universidad Nacional, sede Medellín. Los componentes evaluados en cada una de las muestras, con sus respectivos métodos, se describen a continuación:

- Materia seca (MS): método termogravimétrico por secado a 103 °C (ISO 6496, ISO, 1999)
- Proteína cruda (PC): método de Kjeldahl (NTC 4657, ICONTEC, 1999)
- Fibra en detergente neutro (FDN): Van Soest *et al.* (1991)
- Fibra en detergente ácido (FDA): Van Soest *et al.* (1991)

- Ceniza: incineración directa en una mufla: Thiex *et al.* (2012)
- Calcio: espectrofotometría A.A (NTC 5151, ICONTEC, 2003)
- Fósforo: espectrofotometría UV-VIS (NTC 4981, ICONTEC, 2001)
- Valor calorífico bruto: calorimetría (ISO 9831, ISO, 1998)
- Grasa bruta: extracción Soxhlet (NTC 668, ICONTEC, 1973)
- Materia orgánica (MO): se calculó la diferencia entre los valores de MS y ceniza.

Adicionalmente, cuando fue necesario estimar los requerimientos de nutrientes y la metabolicidad de la energía, se empleó el modelo Cornell Net Carbohydrate and Protein System –CNCPS– (Fox *et al.*, 1992).

**Tratamientos.** En la tabla 1 se describen los tratamientos evaluados. Los tres primeros se correspondieron con las materias primas (forrajes y suplemento) utilizadas; mientras que el resto estuvo compuesto por mezclas que tenían las mismas proporciones de materia prima que la dieta consumida por los novillos sin suplementación (23 % de leucaena y 77 % de guinea) y por los novillos suplementados (26 % de leucaena, 70 % de guinea y 4 % de concentrado), en un ensayo de pastoreo realizado por Gaviria *et al.* (2014).

**Técnica de producción de gas *in vitro*.** La producción de gas *in vitro* se analizó según la técnica descrita por Theodorou *et al.* (1994), con las modificaciones de Posada *et al.* (2006).

Tabla 1. Tratamientos y porcentaje de inclusión de forraje.

| Tratamiento | Leucaena | Guinea | Suplemento |
|-------------|----------|--------|------------|
| L100        | 100      |        |            |
| G100        |          | 100    |            |
| S100        |          |        | 100        |
| L23-G77     | 23       | 77     |            |
| L26-G70-S4  | 26       | 70     | 4          |

**Medio de cultivo.** Se utilizó un medio de cultivo compuesto por solución buffer, solución de macrominerales, solución de microminerales, solución reductora y resarzurina (Goering y Van Soest, 1970).

**Inóculos.** En el centro de beneficio Central Ganadera S. A. de Medellín se recolectó líquido ruminal de tres animales de raza Holstein, provenientes del municipio de Santa Rosa de Osos. Cada líquido

ruminal constituyó uno de los tres inóculos empleados en el proceso de fermentación. Se usaron 108 botellas de vidrio de 110 mL, con tapón hermético de goma; cada una contenía 0,5 g de la muestra correspondiente a cada tratamiento y 45 mL de medio de cultivo. Estas botellas fueron colocadas en un baño María a 39 °C, con agitación constante, donde se les añadió 5 mL de inóculo, y durante el experimento fueron mantenidas a 39 ± 1°C.

**Lecturas de producción de gas.** La presión originada por la acumulación de gases en los frascos fue medida con un manómetro Ashcroft® D1005PS Digital Pressure Gauge. Las lecturas de producción de gas se realizaron a las 2, 4, 6, 10, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 96 horas de fermentación. Para convertir los valores de presión obtenidos en libras por pulgada cuadrada (psi) a unidades de volumen (mL), se utilizó la ecuación descrita por Posada *et al.* (2006).

$$Y = -0,1375 + 0,0745x + 0,000016x^2; (p < 0,0001; R^2 = 0,99)$$

Donde:

Y: volumen de gas (mL)

x: presión de gas (milibares)

**Degradabilidad *in vitro* de la MS.** La degradabilidad *in vitro* de la MS (DIVMS) se determinó mediante el pesaje de los residuos recuperados de la fermentación, después de la filtración de las botellas retiradas a las 24, 48 y 96 h del inicio de la incubación. En cada uno de esos horarios, se retiraron del baño María seis botellas por tratamiento y se trasladaron a una nevera (4 °C), para detener el proceso fermentativo. Posteriormente, se filtró el contenido de cada una de las muestras a través de un papel de filtro, y estas se secaron durante 48 h a temperatura constante de 65 °C, en una estufa con circulación forzada de aire. El papel de filtro con el contenido final de MS de cada botella fue pesado en una balanza analítica (Pioneer OHAUS). La DIVMS se calculó mediante la diferencia entre el contenido inicial de MS y el de MS no degradada (MS final), y se expresó como porcentaje de la MS inicial.

**Análisis estadístico.** Para describir la dinámica de producción acumulativa de gas en el tiempo se utilizó el modelo no lineal de Gompertz (Casas *et al.*, 2010). El ajuste de las curvas se realizó en el programa CurveExpert Professional 2.0.0.

$$y = a * \exp(-\exp(b - (c * x)))$$

Donde:

y: producción acumulada de gas a un tiempo x

$a > 0$ : producción máxima de gas  
 $b > 0$ : diferencia entre el gas inicial y el gas final a un tiempo  $x$

$c > 0$ : tasa específica de acumulación de gas

La aplicación práctica de este modelo requiere la conversión de los parámetros  $a$ ,  $b$  y  $c$  en parámetros con significado biológico. Estos son: hora al punto de inflexión (HPI, horas), gas al punto de inflexión (GPI, mL), tasa máxima de producción de gas (TMPG, mL h<sup>-1</sup>) y fase Lag (FL o establecimiento microbiano, h). Para su estimación se usaron las siguientes fórmulas:

$$HPI = b/c$$

$$GPI = a/e$$

$$TMPG = \frac{(a * c)}{e}$$

$$FL = \left(\frac{b}{c}\right) - \left(\frac{1}{c}\right)$$

Donde: el valor de  $e$  o *exp* corresponde al número de Euler  $\approx 2,7183$ .

Las variables medidas fueron analizadas con el programa estadístico SAS versión 8.0.2. El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$ : observaciones del  $j$ -ésimo sujeto asignado al tratamiento  $i$

$\mu$ : media general de la población

$\tau_i$ : efecto del  $i$ -ésimo tratamiento según la dieta del sistema de producción

$\varepsilon_{ij}$ : error experimental

En cada tiempo de incubación (24, 48 y 96 h) se incluyeron seis réplicas por tratamiento. Asimismo, se usaron como blanco 18 botellas con licor ruminal sin sustrato, por lo que el número total de botellas del experimento fue de 108. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, y las variables dependientes fueron la producción de gas y la desaparición de la MS. Las medias se compararon mediante la prueba de Tukey, con un nivel de significación de 0,05.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Composición química de los forrajes y del suplemento.** La composición química de los tratamientos se muestra en la tabla 2. El suplemento contenía un porcentaje de grasa y un valor calorífico altos, por lo que constituyó un adecuado aporte de energía para novillos de ceba. En el ensayo de campo realizado por Gaviria *et al.* (2014) los novillos recibieron 0,5 kg día<sup>-1</sup> de este suplemento, y ello significó un aporte energético de 1,02 Mcal de ENm día<sup>-1</sup>, o aproximadamente 14,8 % del requerimiento de ENm de un bovino de carne de 400 kg de peso vivo; el cual, según el National Research Council (2000), es de 6,89 Mcal día<sup>-1</sup>.

El contenido de energía bruta de las dos mezclas *in vitro* (L23-G77 y L26-G70-S4) fue de alrededor de 4,2 Mcal kg<sup>-1</sup>, y el de energía metabolizable, de 1,96 Mcal kg<sup>-1</sup>. Cuartas *et al.* (2014a) y Gaviria *et al.* (2014) reportaron que novillos cebuinos que pastorean en SSPi consumen al menos 2,5 % de su peso vivo en términos de materia seca, con lo que novillos de 300 y 400 kg consumirían 31,5 y 42,0 Mcal de energía bruta día<sup>-1</sup> y 14,7 y 19,6 Mcal de energía metabolizable día<sup>-1</sup>, respectivamente. De acuerdo con el modelo CNCPS, en las condiciones del SSPi evaluado un novillo de 400 kg requiere alrededor de 12,33 Mcal de EM día<sup>-1</sup> para su mantenimien-

Tabla 2. Composición química de la dieta.

| Indicador                | L100  | G100  | S100  | L23-G77 | L26-G70-S4 |
|--------------------------|-------|-------|-------|---------|------------|
| Proteína (%)             | 27,6  | 10,3  | 12,0  | 14,2    | 14,8       |
| FDN (%)                  | 32,5  | 68,2  | 10,5  | 60,0    | 56,6       |
| FDA (%)                  | 29,3  | 44,8  | 5,90  | 41,2    | 39,2       |
| Grasa bruta (%)          | 2,95  | 2,03  | 11,6  | 2,24    | 2,66       |
| Valor calorífico (Cal/g) | 4 652 | 4 062 | 4 645 | 4 198   | 4 239      |
| Cenizas (%)              | 8,40  | 13,4  | 9,40  | 12,3    | 12,0       |
| Calcio (%)               | 1,23  | 0,41  | 0,69  | 0,60    | 0,64       |
| Fósforo (%)              | 0,24  | 0,22  | 1,40  | 0,23    | 0,27       |

to, con lo que tendría disponibles 7,27 Mcal de EM día<sup>-1</sup> para el crecimiento, lo cual le permitiría una ganancia diaria de alrededor de 500 g.

La proteína del pasto guinea fue mayor que la de las gramíneas tropicales, en las que comúnmente se reporta un bajo porcentaje de proteína ( $\approx 7\%$ ) y un alto porcentaje de fibra ( $< 60\%$ ), lo que contribuye a una baja digestibilidad total de la dieta y un bajo consumo por parte de los animales (Barahona y Sánchez, 2005). El contenido de nutrientes del pasto guinea, especialmente la proteína y la fibra, se puede mejorar a través de la asociación con leucaena, ya que la interacción gramínea-leguminosa en sistemas silvopastoriles permite mejorar la calidad de la gramínea, al incrementar el contenido de proteína (Barahona y Sánchez, 2005). Además, la disponibilidad de forraje en estos sistemas es mayor en comparación con la de sistemas de monocultivo, lo que permite un aumento de la eficiencia ganadera (Cuartas *et al.*, 2014b). Sin embargo, si se compara con el de guinea sola, el contenido de FDN de las mezclas fue alto, especialmente para el tratamiento L23-G77 (60 % de FDN), por lo que es necesario establecer alternativas para mejorar la relación energía neta-proteína en las dietas consumidas en SSPi basados en leucaena.

*Producción de gas.* En la tabla 3 se muestran los parámetros obtenidos mediante la aplicación del modelo Gompertz a los datos de fermentación *in vitro* de los tratamientos. En todas las corridas del modelo, los coeficientes de determinación fueron superiores a 0,99 y el error estándar varió entre 0,27 y 2,37.

Los tratamientos presentaron una fase de establecimiento o colonización de 3,36-7,61 h ( $p > 0,05$ ). Aun-

que no hubo diferencias significativas, se observó una tendencia a que la fase de establecimiento fuese menor en las mezclas (L33-G77, L26-G70-S4) y en el suplemento. El menor valor de GPI (57,5 mL) se obtuvo en L100, el cual difirió de los demás ( $p < 0,05$ ). Los mayores valores de GPI ocurrieron entre las 20 y 38 h, y coincidieron con los tratamientos que acumularon la mayor cantidad de gas.

La producción máxima de gas fue de 156-247 mL g<sup>-1</sup> de sustrato, y el tratamiento L100 presentó el menor valor. En este sentido, se ha reportado que la producción de gas *in vitro* está relacionada con la eficiencia de utilización del alimento por parte de los microorganismos ruminales.

Por otra parte, la composición química de los forrajes influye sobre el volumen de gas producido, la tasa máxima de producción de gas y el tiempo en que se alcanza la fermentación ruminal *in vitro*. En este estudio, al comparar G100 con sus mezclas (L23-G77 y L26-G70-S4), la mayor producción de gas se obtuvo en los forrajes con menor cantidad de FDN. Ello coincidió con los valores más altos de GPI, ya que, posiblemente, la producción de gas se relacione de forma lineal con la degradación de la FDN; es decir, a mayor contenido de FND digestible mayor será la producción de gas (Kriszan *et al.*, 2013).

Según Fondevila *et al.* (2002), los altos contenidos de lignina en los forrajes pueden explicar los bajos valores de producción de gas, así como el ritmo de fermentación y la degradabilidad, ya que esos contenidos provocan que los polisacáridos estructurales potencialmente digestibles estén menos disponibles al acceso de los microorganismos del rumen.

Tabla 3. Parámetros obtenidos mediante la aplicación del modelo Gompertz.

| Tratamiento    | Producción máxima de gas (mL) | HPI (h) | GPI (mL)           | TMPG (mL hora <sup>-1</sup> ) | FL (h) |
|----------------|-------------------------------|---------|--------------------|-------------------------------|--------|
| L100           | 156 <sup>b</sup>              | 37,8    | 57,5 <sup>b</sup>  | 2,21 <sup>b</sup>             | 7,54   |
| G100           | 219 <sup>ab</sup>             | 38,3    | 80,5 <sup>ab</sup> | 3,91 <sup>ab</sup>            | 7,61   |
| S100           | 238 <sup>a</sup>              | 15,3    | 87,7 <sup>a</sup>  | 8,31 <sup>a</sup>             | 3,36   |
| L23-G77        | 246 <sup>a</sup>              | 21,3    | 90,4 <sup>a</sup>  | 5,65 <sup>ab</sup>            | 5,23   |
| L26-G70-C4     | 247 <sup>a</sup>              | 20,9    | 90,8 <sup>a</sup>  | 5,29 <sup>ab</sup>            | 3,70   |
| Valor <i>p</i> | 0,01                          | 0,25    | 0,01               | 0,04                          | 0,15   |
| EE $\pm$       | 6,04                          | 3,16    | 2,22               | 0,48                          | 0,53   |

a,b Medias con letras distintas en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ), HPI: hora al punto de inflexión, GPI: gas al punto de inflexión, TMPG: tasa máxima de producción de gas

La acumulación de gas demostró que la tasa de fermentación en el rumen se modificó con el empleo de la mezcla de gramíneas y leguminosas forrajeras. Esto también fue reportado por Cuartas (2013), quien halló, después de 96 h de incubación, que las mezclas de gramíneas y leguminosas presentaban mayor degradabilidad que los forrajes incubados solos, lo que sugiere la existencia de efectos asociativos que favorecen la digestión de las mezclas. Asimismo, Nogueira *et al.* (2000) informaron que los sustratos de mayor valor nutricional favorecen la colonización y su degradación eficiente por los microorganismos, así como el aumento de la tasa y la extensión de la fermentación.

Machado *et al.* (2012) reportaron que los sustratos con menor contenido de FDN presentan tasas más altas de producción de gas, y esta sucede más rápido. Esto se observó en G100, L23-G77 y L26-G70-S4, pero con leucaena sola (L100). Además del bajo contenido de FDN, otro factor que modula la producción de gas de este forraje es su contenido de taninos condensados, que puede llegar a ser alto -10 % de la MS- (Barahona *et al.*, 2003), y cuya presencia reduce la producción de gas.

**Desaparición de la MS.** La desaparición de la MS de la leucaena fue superior a la del resto de las muestras ( $p < 0,05$ ), con excepción de la degradabilidad del suplemento, a las 24 horas de incubación (tabla 4). Por su parte, a las 48 y 96 horas de incubación la degradabilidad de las mezclas L23-G77 y L26-G70-S4 no difirió estadísticamente de la observada en G100 ( $p > 0,05$ ).

La desaparición de la MS de las mezclas fue inferior en todas las horas de muestreo respecto a la del tratamiento L100, lo que difiere de lo obtenido en la producción máxima de gas (tabla 3),

como se explicó anteriormente. Resultados similares fueron reportados por Molina *et al.* (2013), quienes observaron una menor producción de gas y una mayor desaparición de la MS en leucaena sola vs. sus mezclas con pasto guinea. Por su parte, Rodríguez y Fondevila (2009), al suplementar *Pennisetum purpureum* con niveles crecientes de leucaena, obtuvieron una relación lineal positiva con la producción de gas en las primeras 5 h de la fermentación, al igual que con la digestibilidad de la MO a las 24 h. Esto se debió, probablemente, a la contribución de la MO fermentable de la leucaena. Por el contrario, Sandoval *et al.* (2002) informaron que, en fermentaciones *in vitro*, la leucaena redujo la DIVMS y la producción de gas de las mezclas de leucaena-gramínea.

Los altos valores de degradabilidad ruminal de la MS en los forrajes son indicadores de una buena calidad nutricional, lo que permite el aporte de nutrientes a la flora ruminal (Preston y Leng, 1990). En este estudio, la mayor degradabilidad se observó con la leguminosa, la cual fue similar a la DIVMS (61,5 %) reportada por Barahona *et al.* (2003) para la leucaena, y superior a la DIVMS (47,8 %) informada por Delgado *et al.* (2013) en una dieta con 27 % de leucaena. El suplemento utilizado mostró menor degradabilidad que la de los forrajes, y mayor producción de gas por unidad de MS degradada. Ello posiblemente se deba a su alto contenido de grasa (11,6 %), que podría limitar su degradación.

La inclusión de la leucaena y del suplemento provocó una disminución en el contenido de FDN de las mezclas, respecto al tratamiento con G100 (tabla 2), pero a su vez aumentó la degradabilidad *in vitro* de la MS de dichas mezclas (tabla 4). Tales resultados no se contraponen, necesariamente, a los reportes de que un alto contenido de FDN provoca una limitada disponibilidad de energía para los rumiantes, ya que en las respuestas *in vivo* se deben considerar factores adicionales como la tasa de escape de la dieta, que afecta directamente el consumo. Se ha observado que el consumo voluntario de la mezcla leucaena-gramínea es, al menos, 1,25 veces más alto que el de la gramínea sola (Cuartas *et al.*, 2014b; Gaviria *et al.*, 2014), por lo que los resultados de este experimento sugieren que dicho consumo obedece más a una mayor tasa de pasaje que a un aumento de la degradabilidad ruminal.

**Producción de gas por unidad de MS degradada.** Los datos de la producción de gas y de la degradabilidad de la MS se combinaron para calcular las tasas de producción de gas por unidad

Tabla 4. Desaparición de la MS en la dieta del SSPi.

| Tratamiento    | Desaparición de MS (%) |                   |                   |
|----------------|------------------------|-------------------|-------------------|
|                | 24 h                   | 48 h              | 96 h              |
| L100           | 45,1 <sup>a</sup>      | 56,7 <sup>a</sup> | 66,9 <sup>a</sup> |
| G100           | 36,2 <sup>b</sup>      | 49,6 <sup>b</sup> | 56,7 <sup>b</sup> |
| S100           | 40,5 <sup>ab</sup>     | 41,3 <sup>c</sup> | 53,8 <sup>b</sup> |
| L23-G77        | 34,7 <sup>bc</sup>     | 45,3 <sup>b</sup> | 55,7 <sup>b</sup> |
| L26-G70-S4     | 30,2 <sup>c</sup>      | 45,9 <sup>b</sup> | 55,5 <sup>b</sup> |
| Valor <i>p</i> | 0,003                  | 0,001             | 0,003             |
| EE ±           | 1,41                   | 1,32              | 1,29              |

a,b. Medias con letras distintas en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

de MS (tabla 5). Estos datos sugieren que al suplementar las gramíneas con forrajes y suplementos se incrementa la síntesis de proteína microbiana en el rumen. A las 24, 48 y 96 h el tratamiento L100 presentó los menores valores de producción de gas (0,18; 0,25 y 0,27 mL, respectivamente) por miligramo de MS fermentada ( $p < 0,05$ ), mientras que la mayor producción se obtuvo con el concentrado.

Los alimentos con una baja relación de volumen de gas por cantidad de MS degradada, como la leucaena (tabla 5), generalmente son más digestibles (Blümmel *et al.*, 1997), su consumo voluntario por los animales es mayor y generan una menor producción de metano en el rumen (Molina *et al.*, 2013). Debido a que el gas y los AGV que se producen son inversamente proporcionales al rendimiento microbiano, la relación muestra variaciones en la síntesis de proteína microbiana, y es un importante indicador de su eficiencia (Darshan *et al.*, 2007). En general, es posible afirmar que en este estudio la inclusión de leguminosas en la dieta mejoró las condiciones de fermentación, lo que favoreció la síntesis de proteína microbiana.

## CONCLUSIONES

En las dietas que incluyen sistemas silvopastoriles basados en leucaena, la presencia de esta leguminosa se asocia al aumento de la proteína, a la vez que conlleva una reducción en el contenido de FDN. Ambas respuestas son positivas desde el punto de vista de la productividad animal.

En este estudio se demostró la alta calidad nutricional de la leucaena y su capacidad de modificar el perfil de fermentación de la dieta, al mostrar la me-

nor producción de gas a pesar de ocasionar la mayor desaparición de MS. Sin embargo, dicho efecto no fue evidente en el caso de las mezclas gramínea-leguminosa, por lo que no es posible predecir la respuesta de estas a partir de cada forraje individual.

## RECOMENDACIONES

Es necesario continuar con esta línea de investigación, a la que se debe adicionar el estudio de la velocidad inicial de degradación de la MS en el rumen, la tasa de pasaje y el tiempo de permanencia, con el fin de entender la obtención de mejores resultados en cuanto a productividad animal en SSPi, en comparación con las dietas tradicionales basadas en gramíneas.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) por la financiación del Proyecto «Análisis comparativo de producción de carne en novillos producidos en un sistema silvopastoril intensivo y confinamiento», dentro del cual se realizó este trabajo de investigación; así como al equipo de trabajo en CIPAV, UDEA y UNAL.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barahona, R.; Lascano, C. E.; Narvaez, N.; Owen, E.; Morris, P. & Theodorou, M. K. *In vitro* degradability of mature and immature leaves of tropical forage legumes differing in condensed tannin and non-starch polysaccharide content and composition. *J. Sci. Food Agr.* 83 (12):1256-1266, 2003.
- Barahona, R. & Sánchez, S. Limitaciones físicas y químicas de la digestibilidad de pastos tropicales

Table 5. Gas production per unit of degraded DM in the SPSi.

| Treatment      | Gas production<br>per miligram of degraded DM<br>(mL mg <sup>-1</sup> ) |                   |                   |
|----------------|---|-------------------|-------------------|
|                | 24 h  | 48 h              | 96 h              |
| L100           | 0,18 <sup>c</sup>   | 0,25 <sup>c</sup> | 0,27 <sup>c</sup> |
| G100           | 0,28 <sup>b</sup>   | 0,38 <sup>b</sup> | 0,39 <sup>b</sup> |
| S100           | 0,44 <sup>a</sup>   | 0,55 <sup>a</sup> | 0,46 <sup>a</sup> |
| L23-G77        | 0,28 <sup>b</sup>   | 0,40 <sup>b</sup> | 0,39 <sup>b</sup> |
| L26-G70-S4     | 0,41 <sup>a</sup>   | 0,40 <sup>b</sup> | 0,41 <sup>b</sup> |
| Value <i>p</i> | < 0,001   | < 0,001           | < 0,001           |
| SE ±           | 0,014   | 0,013             | 0,008             |

<sup>a,b,c</sup> means with different letters in the same column are statistically different ( $p < 0,05$ )

- y estrategias para aumentarla. *Revista Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuarias*. 6 (1):69-82, 2005.
- Blümmel, M.; Makkar, H. P. S. & Becker, K. *In vitro* gas production: A technique revisited. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 77:24-34, 1997.
- Casas, Gloria A.; Rodríguez, D. & Afanador, G. Propiedades matemáticas del modelo de Gompertz y su aplicación al crecimiento de los cerdos. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 23 (3):349-358, 2010.
- Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, CSIRO. *Nutrient requirements of domesticated ruminants*. Collingwood, Australia: CSIRO Publishing, 2007.
- Cuartas, C A. *Evaluación de la utilización de los nutrientes y comportamiento productivo de bovinos pastoreando en sistemas silvopastoriles intensivos con Leucaena leucocephala*. Tesis doctoral. Colombia: Universidad de Antioquia, 2013.
- Cuartas, C. A.; Naranjo, J. F.; Tarazona, A. M.; Corra-Londoño, G. & Barahona, R. Estimation of DM and nutrient intake and diet composition by beef steers grazing in intensive silvopastoral systems based on *Leucaena leucocephala*. *Revista Brasileira de Zootecnia*. /in press/. 2014a.
- Cuartas, C. A.; Naranjo, J. F.; Tarazona, A. M.; Murgueitio, E.; Chará, J. D.; Ku Vera, J. *et al.* Contribution of intensive silvopastoral systems to the adaptation and mitigation of climate change. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 27:76-94. 2014b.
- Darshan, K.A.; Krishnamoorthy, U.; Kiran, D.; Bhaskaran, R. & Manjunath, V. Effect of supplementing finger millet straw with two concentrates differing in their partitioning factor on dry matter intake, organic matter digestibility and nitrogen metabolism in Karan Friesian crossbred heifers. *Anim. Feed Sci. Tech.* 137:35-45, 2007.
- Delgado, Denia C.; Galindo, Juana; Cairo, J.; Orta, Ibett; Domínguez, Marbelis & Dorta, Natacha. Suplementación con follaje de *L. leucocephala*. Su efecto en la digestibilidad aparente de nutrientes y producción de metano en ovinos. *Rev. cub. Cienc. agríc.* 47:267-271, 2013.
- Fondevila, M.; Nogueira-Filho, J. C. M. & Barrios, A. *In vitro* microbial fermentation and protein utilisation of tropical forage legumes grown during the dry season. *Anim. Feed Sci. Tech.* 95 (1-2):1-14, 2002.
- Fox, D. G.; Sniffen, C. J.; O'Connor, J. D.; Russell, J. B. & Van Soest, P. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: III. Cattle requirements and diet adequacy. *J. Anim. Sci.* 70 (11):3578-3596, 1992.
- Gaviria, Xiomara; Sossa, C. P.; Montoya, C.; Chará, J.; Lopera, J. J.; Córdoba, J. P. *et al.* Producción de carne bovina en sistemas silvopastoriles intensivos en el trópico bajo colombiano. En: *VII Congreso Latinoamericano de Sistemas Agroforestales para la Producción Animal Sostenible*. Belém do Pará, Brasil, 2012.
- Gaviria, Xiomara; Naranjo, J. F.; Bolívar, D. M. & Barahona, R. Consumo y digestibilidad de nutrientes en novillos cebuinos pastoreando en un sistema silvopastoril intensivo. /Sometido a/ *Archivos de Zootecnia*. 2014.
- Goering, H. K. & Van Soest, P. J. *Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications)*. USA: USDA, Agricultural Handbook, 1970.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). *NTC 668. Alimentos y materias primas. Determinación de los contenidos de grasa y fibra cruda*. Bogotá D.C., 1973.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). *NTC 4657. Alimento para animales. Determinación del contenido de nitrógeno y cálculo del contenido de proteína cruda. Método Kjeldahl*. Bogotá D.C., 1999.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). *NTC 4981. Alimentos para animales. Determinación del contenido de fósforo. Método espectrofotométrico*. Bogotá D.C., 2001.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). *NTC 5151. Alimento para animales. Determinación de los contenidos de calcio, cobre, hierro, magnesio, manganeso, potasio, sodio y zinc. Método usando espectrometría de absorción atómica*. Bogotá D.C., 2003.
- International Organization for Standardization. *Animal feeding stuffs, animal products, and faeces or urine. Determination of gross calorific value. Bomb calorimeter method. ISO 9831*. Geneva, 1998.
- International Organization for Standardization. *Animal feeding stuffs. Determination of moisture and other volatile matter content. ISO 6496*. Geneva, 1999.
- Juárez, F. I. & Pell, A. N. Evaluation of tropical grasses for milk production by dual-purpose cows in tropical México. *J. Dairy Sci.* 82:2136-2145, 1999.

- Kriszan, S. J.; Jančík, F.; Ramin, M. & Huhtanen, P. Comparison of some aspects of the *in situ* and *in vitro* methods in evaluation of NDF digestion. *J. Anim. Sci.* 91 (2):838-847, 2013.
- Machado, P. A. S.; Valadares Filho, S. C.; Valadares, R. F. D.; Paulino, M. F.; Paulino, P. V. R. & Marcondes, M. I. Desempenho e exigências de energia e proteína de bovinos de corte em pasto suplementados. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.* 64 (3):683-692, 2012.
- Makkar, H. P. S. Applications of the *in vitro* gas method in the evaluation of feed resources, and enhancement of nutritional value of tannin-rich tree/browse leaves and agro-industrial by-products. In: *Development and field evaluation of animal feed supplementation packages.* Proceedings of the final review meeting of an IAEA Technical Co-operation Regional AFRA Project. Cairo: FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. p. 23-40, 2000.
- Molina, Isabel C.; Cantet, J. M.; Montoya, S.; Correa, G. A. & Barahona, R. Producción de metano *in vitro* de dos gramíneas tropicales solas y mezcladas con *Leucaena leucocephala* o *Gliricidia sepium*. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia.* 8 (2):15-31, 2013.
- Naranjo, J. F.; Cuartas, C. A.; Murgueitio, E.; Chará, J. & Barahona, R. Balance de gases de efecto invernadero en sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena leucocephala* en Colombia. *Livestock Research for Rural Development.* 24 (8). <http://www.lrrd.org/lrrd24/8/nara24150.htm>. [3/3/2014], 2012.
- Nogueira, J. C. M.; Fondevilla, M.; Barrios, A. & González, M. *In vitro* microbial fermentation of tropical grasses at an advanced maturity stage. *Anim. Feed Sci. Tech.* 83:145-157, 2000.
- National Research Council. Nutrient requirements of beef cattle. 7th rev. ed. Washington, DC: The National Academies Press, 2000.
- Posada, Sandra L.; Noguera, R. & Bolívar, Diana. Relación entre presión y volumen para la implementación de la técnica *in vitro* de producción de gases en Medellín, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.* 19 (4):407-414, 2006.
- Preston, T. R. & Leng, R. A. *Ajustando los sistemas de producción pecuaria a los recursos disponibles: aspectos básicos y aplicados del nuevo enfoque sobre la nutrición en el trópico.* Cali, Colombia: Circulo de impresores Ltda., 1990.
- Rodríguez, R.; Fondevila, M. & Castrillo, C. *In vitro* ruminal fermentation of *Pennisetum purpureum* CT-115 supplemented with four tropical browse legume species. *Anim. Feed Sci. Tech.* 151:65-74, 2009.
- Sandoval, C. A.; Capetillo, C.; Cetina, R. & Ramírez Avilés, L. A mixture simplex design to study associative effects with an *in vitro* gas production technique. *Anim. Feed Sci. Tech.* 101:191-200, 2002.
- Tarazona, A. M.; Ceballos, M. C.; Cuartas, C. A.; Naranjo, J. F.; Murgueitio, E. & Barahona, R. The relationship between nutritional status and bovine welfare associated to adoption of intensive silvopastoral systems in tropical conditions. In: H. P. S. Makkar (ed.). *Enhancing animal welfare and farmer income through strategic animal feeding: some case studies.* Rome: FAO. Animal Production and Health Paper No. 175, 2013.
- Theodorou, M. K.; Williams, Barbara A.; Dhanoa, M.; McAllan, A. B. & France, J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Tech.* 48:185-197, 1994.
- Thiex, Nancy; Novotny, L. & Crawford, A. Determination of ash in animal feed: AOAC Official Method 942.05 Revisited. *J. AOAC Int.* 95 (5):1392-1397, 2012.
- Van Soest, P. J.; Robertson, J. B. & Lewis, B. A. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74 (10):3583-3597, 1991.

Recibido el 7 de marzo de 2014

Aceptado el 30 de junio de 2014