

Evaluación Nutricional de Leguminosas Tropicales

F. I. Juárez Lagunes

1. INTRODUCCION

Las leguminosas tropicales han sido muy poco aprovechadas en la alimentación animal. Sin embargo, son plantas que se encuentran de manera abundante en la mayor parte de los ecosistemas tropicales de México. Estas plantas tienen como atributo principal desde el punto de vista de forraje para el ganado, altos contenidos de proteína los cuales varían del 14 al 28% y contenidos de fibra menores al 40%, lo que permite un mayor consumo voluntario y digestibilidad, obteniendo incrementos en los rendimientos productivos de carne y leche hasta de un 50% o más (Lascano y Avila 1991;González,1992) .

Las leguminosas forrajeras tropicales, cuentan con una gran cantidad de importantes evaluaciones de tipo agronómico (citas); sin embargo, se tiene poca información sobre su valor nutritivo por lo que es necesario conocer el valor nutricional de las leguminosas tropicales para mejorar la eficiencia con la cual el ganado las utiliza (Montero y col., 1998).

Para mejorar las predicciones de la utilización nutritiva de los forrajes por los bovinos, nuevos modelos se han desarrollado como el Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS) en su sección para bovinos de doble propósito; así como al National Research Council (NRC) para bovinos de leche y bovinos de carne. Estos modelos requieren entre otros análisis, fraccionar la proteína. Pero la falta de información en composición química de leguminosas tropicales hace difícil utilizar estas herramientas computacionales. Aproximadamente un tercio de la proteína de los forrajes tropicales está en la pared celular (Krishnamoorthy y col. 1982). La concentración y distribución está afectada por la especie, la edad al corte, manejo y ambiente. Datos sobre estos efectos en leguminosas tropicales no existen.

Licitra y col. (1996), Pichard y Van Soest (1977), y Van Soest (1994) han desarrollado métodos para fraccionar la proteína de los alimentos utilizando ácido túngstico para precipitar Nitrogeno no proteico, amortiguador borato-fosfato para medir proteína soluble, y ambas, Nitrogeno insoluble en soluciones detergente neutro y ácido permiten determinar proteína insoluble e indigestible. Mediante este esquema de

análisis se pretende determinar las fracciones de nitrógeno de siete leguminosas tropicales a cuatro edades de corte para estimar su valor nutritivo en ganado de doble propósito utilizando el modelo CNCPS.

2. ANTECEDENTES

México dedica más del 60 por ciento de su territorio a la ganadería bovina (Enríquez y col., 1999). Desde este punto de vista y por su posible impacto ecológico, esta actividad se considera la más importante del sector agropecuario y forestal. A pesar de ello, sus valores productivos están muy por debajo de las potencialidades que cada una de las regiones productoras pudieran desarrollar.

En la región tropical de México, que representa el 33 por ciento de la superficie nacional se mantiene el 64 por ciento del hato ganadero. En ella se produce del total nacional, el 25 por ciento de la leche y el 35 por ciento de la carne, siendo determinante el papel que juegan los forrajes en esta actividad productiva por su relativo bajo costo, disponibilidad y facilidad de obtención, en contraste con otras fuentes de alimentación.

Esta participación puede incrementarse de manera sustantiva una vez que se aproveche adecuadamente el potencial de los recursos forrajeros en estas regiones. De manera general, se considera factible incrementar la actual carga animal con promedio de 1.3 cabezas por hectárea, hasta tres o más cabezas, bajo sistemas de producción racionales, intensivos y sustentables (Enríquez y col., 1999).

En nuestro país existe un alto potencial para la producción de forrajes tropicales, caracterizado por la presencia de una gran diversidad de gramíneas y leguminosas que se encuentran en forma natural o que han sido introducidas. El beneficio está muy lejos de ser el óptimo, debido principalmente al manejo tradicional que se caracteriza por el bajo nivel de utilización de tecnología, situación que no permite la expresión total del potencial forrajero.

Para lograr la mayor productividad, los sistemas de producción ganaderos en el trópico deberán sustentarse en tecnologías apropiadas, consistentes en el uso y diversidad de especies forrajeras con alto potencial productivo, alta resistencia al pastoreo, de gran valor nutricional (Contreras, 1986).

El Estado de Veracruz cuenta con una extensión de 7.3 millones de ha, que representan el 3.7% del total de la superficie nacional, de las cuales 3.6 millones de hectáreas son dedicadas a la ganadería en donde el pastoreo es el sustento; Veracruz ocupa el primer lugar nacional en producción de carne de bovino y el sexto lugar en producción de leche (SAGARPA,2002). Siendo parte fundamental para obtener estos niveles de producción la ganadería de doble propósito, con un inventario de 3,972,886, con una producción anual de 197,812 toneladas de carne en canal y 600,317 toneladas de leche lo que representa una derrama económica de \$26,523,972.00 (anuario estadístico del estado de Veracruz 2000.INEGI-Gobierno del estado de Veracruz-Llave)

Las gramíneas son la base de la alimentación no obstante su alto contenido de fibra (mas del 60%) y bajo contenido de proteína (menos del 10%) esto aunado a su baja disponibilidad en la época de sequía.

Una de las principales limitantes de la productividad de la ganadería Veracruzana, es la variación en la calidad y disponibilidad de forrajes. Los sistemas de producción se basan en praderas de gramíneas con alto contenido de fibra (mas del 60%) y bajo contenido de proteína (menos del 10 %); asociado a un exceso de forraje durante la época de lluvias y baja disponibilidad en la época de secas. Estas variaciones resultan en una producción de forraje estacional e insuficiente para cubrir los requerimientos nutricionales de los animales.

En nuestro país existe un alto potencial para la producción de forrajes tropicales, caracterizado por la presencia de una gran diversidad de leguminosas que se encuentran en forma natural o que han sido introducidas. El beneficio está muy lejos de ser el óptimo, debido principalmente al manejo tradicional que se caracteriza por el bajo nivel de utilización de tecnología, situación que no permite la expresión total del potencial forrajero.

2.1 LEGUMINOSAS TROPICALES

De todas las plantas utilizadas por el hombre, solo las gramíneas son mas importantes que las leguminosas, sin embargo mientras existen un gran numero de investigaciones en gramíneas como el maíz, cana de azúcar, arroz, avena, cebada, sorgo; para el caso de leguminosas solo reciben mas atención cultivos como el fríjol, soya, cacahuates. No obstante, las leguminosas muestran un gran potencial para producir la proteína de

origen vegetal que se necesita y que se necesitara (National Academy of Sciences, 1979).

Las leguminosas además poseen la propiedad de mejorar el contenido de nitrógeno del suelo a través de la fijación de este desde la atmósfera. Estas pueden fijar hasta 500kg de N/Ha/año (Ara y col, 1990; Thomas, 1995) un rápido recambio del fósforo (oberson y col, 1995) y un incremento en la actividad biológica del suelo (decaens y col, 1994) controlando así la severa erosión de los suelos tropicales; otro atributo de las leguminosas forrajeras es su calidad y disponibilidad que hay durante la temporada de sequía, época en que los pastos reducen en un 75% su producción de forraje.

Para los países en desarrollo especialmente los de la América tropical el cultivo de leguminosas tropicales es el mejor camino y el mas rápido para la producción de alimentos proteínicos, pero de los cientos de variedades de leguminosas que existen menos del 20% son utilizados, además existen pocos trabajos de investigación que motiven el uso del resto de leguminosas (National Academy of Sciences, 1979).

Por su gran diversidad, las leguminosas se pueden encontrar en condiciones naturales o cultivadas. En la actualidad se tienen identificados 748 géneros y 19,700 especies. Principalmente son plantas tropicales, que se desenvuelven especialmente en regiones de condiciones adversas como altas temperaturas, precipitación extrema y suelos de baja fertilidad. Estas características las hacen de un alto potencial en la ganadería como una fuente de proteína de bajo costo.

La familia de las leguminosas se divide en 3 subfamilias: *Caessalpinioideae*, principalmente árboles (*L. Leucocephala*, *G. sepium*); *Mimosoideae* árboles pequeños y arbustos (*P. phaseoloides*) y *Papilionoideae* (*C. argentea*) principalmente malezas (National Academy of Sciences, 1979).

La utilización de especies de leguminosas ya sean arbóreas o arbustivas es una actividad común en América Latina, África, y Australia (Devendra, 1995). Sin embargo en México se carece de esta cultura de utilización de las leguminosas como complemento nutricional, debido a que se carece de información de su valor nutricional y como utilizarlas en el balanceo de raciones.

La mayoría de las plantas dependen del N mineral del suelo para satisfacer sus requerimientos. Las reservas de N total en el volumen de suelo explotable por las raíces son mayores que los requerimientos

2.2 POTENCIALIDADES DE LAS LEGUMINOSAS TROPICALES.

2.2.1 FUENTE NUTRITIVA.

Estas plantas tienen como atributo principal desde el punto de vista de forraje para el ganado, altos contenidos de proteína de las cuales varían del 14 al 28% y bajos contenidos de fibra menores al 40% lo que permite un mayor consumo voluntario y digestibilidad obteniendo incrementos en los rendimientos productivos de carne y leche hasta de un 50% o más (Lascano y Avila 1991; González, 1992) lo que en comparación con gramíneas tropicales son superiores. Sus contenidos de proteína tienden a disminuir gradualmente conforme a la edad de la planta.

El contenido de nutrientes minerales es también diferente en las leguminosas; normalmente éstas tienen mayores contenidos de Ca y P que las gramíneas (Ara, 1987).

2.2.2 MEJORADORAS DE LA CALIDAD DEL SUELO.

Las leguminosas toman un papel muy importante al ayudar a mejorar los suelos desde el punto de vista de fertilidad, pues tienen la propiedad de transformar nitrógeno atmosférico a nitrógeno soluble listo para ser utilizado por las plantas a través de una simbiosis con microorganismos bacterianos del género *Rizobium*, que se encuentran en las raíces de las plantas formando nódulos.

El incremento en N comúnmente es observado con el aumento en la productividad, tanto en la biomasa como en la ganancia de peso de los animales.

La contribución del nitrógeno fijado es importantísimo para mantener la producción de un lugar determinado por un largo periodo, el potencial estimado de fijación de nitrógeno anual varía de 110 para *leucaena leucocephala* (Halliday y Somesegaram, 1993) a 1560 kg/ha para *Stilosantes humillis* (Garter, 1970), este potencial puede variar con la especie, manejo y método de estimación.

La acumulación de N por residuos foliares y potencial de suministro al ecosistema por esta vía pueden ser tan altos como 77.5 kg/ha por año en una asociación *andropogon gayanus/ pueraria phaseoloides*.

La contribución de las leguminosas en términos de la productividad de la biomasa de forraje es mas notoria en ecosistemas tropicales estacionales donde ella complementa la productividad en épocas desfavorables, para el crecimiento de las gramíneas; el nitrógeno fijado por las leguminosas es la base para los sistemas de pastoreo de Nueva Zelanda.

2.3 FACTORES A CONSIDERAR.

Es importante tener en cuenta un elemento que en cierta medida puede constituir una limitante en el uso de las leguminosas. Durante millones de años muchas de estas especies de plantas han sobrevivido gracias a su capacidad para producir sustancias que las protejan de sus depredadores. Aún cuando algunos de estos compuestos son capaces de producir una reacción violenta e inmediata, en la mayoría de los casos lo que tiene lugar es un efecto sutil que se manifiesta con la ingestión prolongada. Entre estos últimos se destaca la disminución del consumo y/o de la eficiencia digestiva, lo que repercute negativamente en el crecimiento y productividad del animal. Es por eso que tales sustancias son conocidas como factores anticalidad o antinutricionales. No obstante, en algunos casos la presencia de tales sustancias podría ser beneficiosa para el animal, especialmente en los rumiantes (Pedraza y col, 1994). Tanto los pastos como los forrajes son portadores de factores antinutritivos, pero aparecen con mayor fuerza en las plantas con altos niveles de nitrógeno como las leguminosas y con mayor fuerza en las arbustivas que en las rastreras (Martínez, 1997).

Estos metabolitos actúan principalmente en la digestión y absorción de proteínas, pero también han sido observadas sus influencias sobre la digestión de carbohidratos, utilización de minerales y sobre la biodisponibilidad de vitaminas.

Los efectos perjudiciales o beneficiosos en la producción animal de los factores antinutritivos dependen de muchos aspectos, en su mayoría estrechamente interrelacionados: el tipo específico de sustancia química y su concentración en la digesta, composición de la dieta, especie y categoría animal, adaptabilidad del animal, procesamiento y manejo, etc (Vargas, 1991); (Lalles, 1991)

2.3.1 TANINOS

De importancia en las leguminosas es el contenido de taninos que puede influir en el consumo voluntario y en el valor nutritivo al modificar la digestibilidad ruminal en los bovinos (Giner-Chavez, 1996; López *et al*, 1998) analizaron 20 especies forrajeras de Veracruz y Tabasco por su contenido de taninos condensados totales y las agruparon en tres categorías:

1.-De contenido bajo con hasta 30 g/kg como son el chipolcoite, la canavalia, el ramon, la pueraria.

2.- De contenido moderado con mas de 30 y menos de 60g/kg como son la Erytrina, Arachis, Melina

3.-Forrajes con mas de 60 g/kg como son la Leucaena, la Gliricidia, el Desmodium. Estos últimos pueden ser menos apetecibles por el ganado y de menor digestibilidad ruminal; en tanto que los forrajes con un contenido moderado o bajo de taninos condensados pueden resultar benéficos para el animal ya que se ha observado un incremento positivo en el sobrepaso ruminal de proteínas y en la retención del nitrógeno, sin que el contenido de taninos afecte el consumo voluntario ni la digestibilidad de la fibra.

El mismo autor aclara que se deberá ser precavido cuando se quiere evaluar un forraje tan solo por su contenido de fenoles totales, ya que estos pueden ser sub o sobre estimados.

Los taninos son compuestos fenólicos más o menos solubles en agua con masa molecular mayor a 500 y capacidad para precipitar la gelatina y otras proteínas. Los taninos se clasifican en hidrolizables (TH) y condensados (TC) por su estructura y reactividad frente a sustancias hidrolíticas. Los TH consisten de carbohidrato central cuyos grupos carboxilos han sido esterificados por ácidos como el gálico, *m*-digálico o hexahidroxidifénico.

Estos tipos de taninos son fácilmente hidrolizados por las bases, los ácidos y las enzimas, p. Ej. *Penicilium tanasa*. El ácido tánico es un ejemplo bien conocido de este grupo y contiene 8-10 moles de ácido gálico por mol de glucosa. Los TH son

abundantes en hojas, frutos y tallos de dicotiledóneas tales como roble, castaño, etc. 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. Poseen un típico esqueleto flavonoide con largas cadenas de catequina y epicatequina.

2.3.2 INTERACCIONES PROTEÍNA-TANINO

La importancia en la nutrición de las interacciones proteína-tanino ha sido ampliamente reconocida. Sin embargo, los detalles de la química de tales interacciones sólo han sido revelados muy recientemente. Los complejos tanino-proteína se forman 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 recobrados intactos. Sin embargo, si las proteínas y taninos son puestas 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 los de la lisina o la cisteína, convirtiendo en irreversible la asociación. Las asociaciones entre proteínas y taninos son dependientes de las características de ambos tipos de compuestos. 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. También lo logran con relativa facilidad las pequeñas ricas en prolina debido a que tienen una estructura abierta de fácil acceso para la formación de enlaces de hidrógeno (Hagerman, 1989). Algunos autores plantean, sin embargo, que el contenido de prolina por sí solo no es condición suficiente para la afinidad de la molécula por los taninos (Mole, y col, 1990) y sugieren modificaciones que tienen lugar en tales moléculas como la glicosidación, que producen una mayor apertura conformacional.

Se ha observado que la afinidad de los taninos por las proteínas se incrementa proporcionalmente con el peso molecular de estos últimos. Esta regularidad deja de cumplirse cuando el tamaño de la molécula de tanino es tal que se insolubiliza y pierde totalmente la posibilidad de enlazarse (Kumar y Horigome, 1986).

Los complejos que se forman entre taninos y proteínas pueden a su vez ser solubles o no. Si el tanino está presente en exceso, toda la proteína a su alcance se insolubilizará, sin embargo si quien está en exceso es la proteína, el complejo suele permanecer en disolución. El pH tiene también gran influencia en el proceso; mientras más cercano está al punto isoelectrónico de la proteína, mayor será el grado de precipitación del complejo. Esto resulta de gran importancia para el entendimiento del rol de los taninos en la digestión por cuanto el pH varía de una a otra región del tracto digestivo (Haslam, 1989; Hagerman, 1989).

2.3.3 REDUCCIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA Y LA MATERIA SECA.

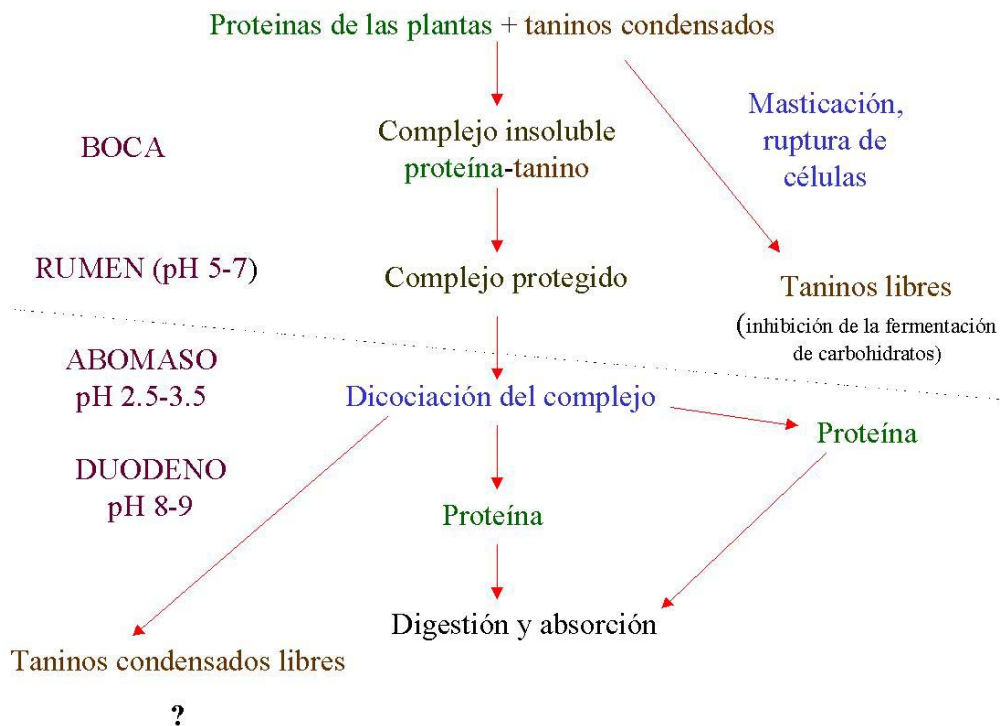
Los forrajes que contienen TC, desde el punto de vista de la nutrición, pueden ser fraccionados en tres grupos: extractables o libres, ligados a la proteína o ligados a la fibra (Terrill y col, 1992). Todas las fracciones tienen significación nutricional. Los taninos que se enlazan a la proteína o la fibra pueden hacerla indigestible. Los taninos libres, a su vez, pueden formar complejos con la proteína de la dieta así como con las endógenas, incluyendo las enzimas (Vaithyanathan y Kumar, 1993). Es muy poco probable que las proteínas enlazadas a los taninos sufran un proceso normal de digestión. La interacción de los taninos con las enzimas pueden inhibir la acción de estas últimas. De hecho se ha probado que los taninos inhiben un amplio espectro de enzimas en ensayos *in vitro*. No obstante, los ensayos *in vivo* han dado lugar a reportes contradictorios. Blytt y col., (1988) observaron que las enzimas mantenían toda su actividad *in vivo*, probablemente debido a la presencia de detergentes y las desfavorables condiciones de pH, lo que evita la formación de los enlaces tanino-proteína. Se han reportado incrementos de la actividad de la lipasa en presencia de dietas con taninos; quizás los taninos estimulan una secreción pancreática de todas las enzimas del tracto y tienen a su vez poca afinidad por las lipasas. Recientes estudios de varias especies de animales *in vivo* indican que los taninos afectan la actividad enzimática. Tanto la reducción de la actividad enzimática como la formación de complejos con las proteínas y la fibra son causas de la disminución en la digestibilidad. Dicha disminución en la digestibilidad es sin embargo no uniforme. La diversidad de efectos puede ser en parte debida a las diferencias en la naturaleza química de los taninos y en parte a las diferencias en la capacidad de los animales para manejar estos compuestos (Griffiths y Moseley, 1980; Horigone, y col, 1988).

2.3.4 EFECTO SOBRE EL METABOLISMO DEL RUMEN

Se han investigado efectos tanto negativos como positivos de la presencia de taninos en el rumen, debido a su capacidad para formar complejos con la proteína y la fibra. Los efectos beneficiosos incluyen la protección de la proteína, convirtiéndola en sobrepasante, mientras que el principal perjuicio es la inhibición de la fermentación.

Las proteínas de origen vegetal en ocasiones tienen más valor al ser absorbidas en el intestino que las propias de origen microbiano producidas a nivel de rumen.

El complejo proteína-tanino condensable es estable a pH 4-7 (Mangan, 1988) pero tiende a descomponerse fuera de este rango. En concordancia con esto el complejo pasa a través del rumen pero se disocia en presencia de los jugos gástrico (pH 2.5-3.5) y pancreático (pH 8-9) de manera que en el abomaso y el duodeno los taninos dejan de ejercer su influencia contraria a la digestión de las proteínas. Hay sin embargo reportes de proteínas precipitadas por *P. Cineraria* a pH = 2. Por otro lado, hay quienes afirman que la digestibilidad del N en el intestino puede en algunos casos ser afectada por la presencia de taninos. Qué ocurre con los taninos en el intestino es algo aún no explicado (Kumar, 1992b).



2.4 INCREMENTO EN LA PRODUCTIVIDAD ANIMAL

2.4.1 GANANCIA DE PESO

Las leguminosas benefician la productividad animal de dos formas, aumentando la capacidad de carga animal, la cual es una consecuencia en el aumento de la biomasa; también aumenta el valor nutritivo del forraje en comparación con gramíneas solas sin N.

En la literatura numerosos trabajos muestran beneficios de las leguminosas en la producción animal en trópico. En Australia la inclusión de *S. Humillis* y fertilización con N y P incrementaron la ganancia de peso de 29 a 93 kg/ha y de 47 a 121 kg/animal (Shaw y Manneje, 1970)

El incremento de la productividad animal reportada por Favareto y col. (1985), fue de 132% para la producción de PV/ha y de 88% para GDP, cuando incluyo una mezcla de la leguminosa *Neotonia wigthi* y *C. Pubecens* en una pradera de *Panicum maximun*.

A pesar de los beneficios propuesto como producto de las leguminosas, algunos investigadores han mostrado nulos resultados. Por ejemplo se reporto un incremento de -6% tanto en la ganancia de peso vivo como en la ganancia individual, cuando incluyó *P. Phaseloides* como banco de proteína en un pastizal de *B. Decumbens*. Es posible que el bajo consumo de *P. Phaseloides* haya sido efecto de su poca gustocidad, haya aumentado el consumo de la gramínea y enmascarado el efecto benéfico de la leguminosa (Pinedo, 1986).

2.4.2 PRODUCCIÓN DE LECHE

La cantidad de leche que produce una vaca es el resultado de dos factores (a) La capacidad fisiológica (habilidad genética, historia nutricional y estado de lactancia), y (b) La cantidad de nutrientes que consume el animal (plano nutricional, tipo de alimentación). (Moe y Tyrrell, 1975).

Stobbs (1976) resume que en potreros de gramíneas tropicales y con cargas bajas se puede esperar una producción de 6 a 7kg leche/vaca por día. Si estas praderas contienen leguminosas o si son fertilizadas, la producción puede llegar hasta 14 kg/vaca por día. Reátegui (1993), trabajando con leguminosas (*C. acutifolium*, *C. macrocarpum*, *C. pubescens*, *stylo* y *D. ovalifolium*) asociadas con la gramínea *A.*

gayanus en Pucallpa en 7 fincas, con pastoreo rotativo y con vacas cruzadas Cebú x Holstein, obtuvo promedios de producción de leche de 3.01 kg/vaca por día, similares a los hallados por Michelsen (1990) en el Caquetá (Colombia).

Lascano y Ávila (1991) trabajaron en Quilichao (Colombia) con las pasturas *A.gayanus* y *B. dictyoneura* solas o asociadas con cada una de las leguminosas *C. macrocarpum* y *C. acutifolium*. Ellos encontraron que la producción de leche de la pastura *B. dictyoneura*/*Centrosema macrocarpum* o *B. dictyoneura* /*C. acutifolium* fue mayor que en la gramínea sola. Por otro lado, *A. gayanus*/*C. acutifolium* produjo más leche que *A. gayanus* solo o que *A. gayanus*/*C. macrocarpum*.

Ávila y Lascano (1997) en Quilichao, en un experimento diseñado para estudiar la respuesta en producción de leche a la suplementación forrajera de vacas en pastoreo, no encontraron efecto de la leguminosa *Cratylia argentea* en combinación con king grass, cuando la disponibilidad de forraje no fue limitante (i.e. 2 UA/ha). Sin embargo, cuando la disponibilidad de forraje en la pastura fue limitante (i.e. 4 UA/ha), la introducción de *C. argentea* resultó en un incremento de 25% en producción de leche. En un segundo ensayo de suplementación con niveles crecientes de *C. argentea* en combinación con caña de azúcar, estos autores no encontraron respuestas usando vacas cebú. Sin embargo, con vacas cruzadas (Cebú x Holstein) la respuesta a estos niveles fue lineal. Con la combinación 25% caña y 75% *C. argentea* hubo un incremento de 25% (2kg/vaca/día) en la producción de leche con relación a caña de azúcar sola.

Mosquera y Lascano (1992) trabajando en Quilichao con vacas cruzadas (Cebú x Holstein) en pasturas de *B. decumbens* con y sin acceso a bancos de proteína de *C. macrocarpum* y de *C. acutifolium* en tres fases, hallaron que en la fase 1 la producción de leche tendió a ser mayor en la gramínea complementada con bancos de proteína que en la gramínea sola. Sin embargo, en las fases 2 y 3 no se encontraron diferencias.

En un trabajo en 10 fincas y 2 estaciones experimentales localizadas en Caquetá y Meta (Colombia), usando *B. decumbens* solo y asociado con una mezcla de *C. macrocarpum* CIAT 5713, *C. acutifolium* CIAT 5277, *C. brasilianum*, *D. ovalifolium*, *Arachis pintoii* y *stylo* CIAT 184, se hallaron que el efecto de la leguminosa en la producción de leche fue afectado por la época del año. En época seca, en 6 ranchos se

encontraron aumentos significativos en la producción diaria de leche por animal (340 vs 660 g) al usar pasturas asociadas. En época de lluvias las diferencias en producción entre ambos tipos de pasturas fueron menores, únicamente en tres fincas el incremento en la producción de leche fue mayor en la pastura asociada, en comparación con la gramínea sola. (Ulrich y col. 1994).

Se evaluó el efecto de la introducción de *A. pintoii* en pasturas de *B. decumbens* bajo dos niveles de suplementación (alto y bajo) en la producción de leche de vacas cruzadas Holstein x Cebú en Costa Rica. *A. pintoii* con un nivel alto de suplementación produjo un incremento en producción de leche de 11.0 a 12.0 kg/vaca por día. Este incremento, para un nivel bajo de suplementación, fue de 8.3 a 9.3 kg/vaca por día. (Romero y Gonzáles 1998)

Reportes de Campo Grande (Brasil) de 1973 mencionan una producción diaria de leche por vaca de 7.9 kg para una pastura de *B. decumbens* asociada con *C. pubescens*, comparada a 6.9 kg con pastura *B. decumbens* sola, y a 8.7 kg para *B. decumbens* fertilizada con 140 kg/ha de N. En un segundo estudio en Nova Odessa, también en Brasil, la inclusión de varias leguminosas, entre ellas *C. pubescens* en una pastura de *Brachiaria mutica* incrementó la producción diaria de leche por vaca de 6.8 a 7.9 kg. Sin embargo, en esta misma región, la producción diaria de leche por vaca de *Pennisetum purpureum* asociada a varias leguminosas fue de 9.5 kg comparada a 9.7 kg de *P. purpureum* sola (Lascano *et al.*, 1990).

Según experiencias de Suárez *et al.*, (1987) en Caldas (Colombia), *L. leucocephala* no incrementó significativamente la producción acumulada de leche en una pastura de *B. decumbens* fertilizada con 49 a 238 kg/ha de N. Sin embargo, en Turrialba, Costa Rica, *A. pintoii*, una de las leguminosas forrajeras más promisorias para el trópico, produjo un aumento de 17% en la producción de leche en una pastura de *Cynodon nmenfluensis* (Lascano, 1993).

Experiencias extensivas en fincas en Pucallpa con las leguminosas *stylo* y *A. pintoii* han reportado incrementos en la producción de leche durante 10 años. Estos resultados han sido confirmados en el período 1996-97 (Reátegui, 1998).

Experiencias más controladas, pero siempre bajo pastoreo (Ara *et al.*, 1998) han reportado rendimientos más altos, aunque siempre el incremento por la leguminosa fue marginal: 4.73 kg/vaca por día para *B. decumbens sola*, y 5.07 kg/ vaca por día para la asociación con *styro*, *P. phaseoloides*, *C. macrocarpum* y *A. pintoii*.

2.4.3 GANANCIA DE PESO VIVO DE VACAS EN LACTACIÓN

No existen datos específicos sobre el efecto de las leguminosas sobre la ganancia de peso de vacas en lactación, se realizaron algunos experimentos y se lograron ganancias de peso, pero desafortunadamente no se tomo la información correspondiente a cada tratamiento en específico (Lascano y Avila, 1991) y (Mosquera y Lascano, 1992).

2.5 LEGUMINOSAS CON POTENCIAL PARA SER UTILIZADAS EN VERACRUZ.

El uso de leguminosas forrajeras por los ganaderos veracruzanos, es una practica que debe considerarse, ya que el empleo de estas plantas permite mejorar la calidad de los forrajes de los cuales se dispone, lo cual conduce a incrementar las ganancias de peso y producción de leche de los bovinos.

El manejo de leguminosas en sistemas de pastoreo es un indicativo del interés en la empresa productiva y del grado de tecnología que puede manejar un ganadero. Praderas mixtas de gramíneas y leguminosas nos daran un sistema de pastoreo en equilibrio ecológico, ya que no requieren del ingreso de insumos y pueden ser sustentables. A pesar de ser altamente productivos y ecológicamente estables, su uso no se ha generalizado en Veracruz, debido a la falta de información acerca de sus valor nutricional. A continuación se describen las leguminosas en estudio.

2.5.1 .*Cratylia argentea*

El género *Cratylia* pertenece a la familia Leguminoseae, subfamilia Papilionoideae, tribu Phaseoleae y subtribu Diocleinae; crece en forma de arbusto de 1.5 a 3.0 m de altura o en forma de lianas volubles. Las hojas son trifoliadas y estipuladas, los folíolos son membranosos o coriáceos con los dos laterales ligeramente asimétricos; la inflorescencia es un pseudoracimo nodoso con 6 a 9 flores por nodosidad; las flores varían en tamaños de 1.5 a 3.0 cm con pétalos de color lila y el fruto es una legumbre dehiscente que contiene de 4 a 8 semillas en forma lenticular, circular o elíptica (Queiroz y Coradín, s.f.).

C. argentea es un arbusto nativo de la Amazonia, de la parte central de Brasil y de áreas de Perú, Bolivia y nordeste de Argentina.

Se caracteriza por su amplia adaptación a zonas bajas tropicales con sequías hasta de 6 meses y suelos ácidos de baja fertilidad del tipo ultisol y oxisol. Bajo estas condiciones produce buenos rendimientos de forraje bajo corte y tiene la capacidad de rebrotar durante el período seco debido a un desarrollo radicular vigoroso. Por otra parte, produce abundante semilla y su establecimiento es relativamente rápido cuando las condiciones son adecuadas.

Se adapta bien a sitios bien drenados, en suelos ácidos de baja fertilidad y alta concentración de aluminio. Tolerancia muy bien la sequía y posee la capacidad de rebrotar aún durante la seca.

Cratylia argentea se multiplica fácilmente por semilla, siendo la propagación vegetativa poco exitosa. Produce semilla de buena calidad y sin marcada latencia física o fisiológica; por tanto, no necesita escarificación previa a la siembra.

La siembra se debe hacer en forma superficial, a menos de 5 cm de profundidad, ya que siembras más profundas pueden causar pudrición de la semilla y retardo en la germinación de las plántulas.

El crecimiento inicial es lento en los primeros dos meses, a pesar que el vigor de las plántulas es mayor que el de otras especies arbustivas, como por ejemplo *Leucaena leucocephala*

C. argentea (3 meses de rebrote) tuvo un contenido de proteína cruda (23.5%) similar al de otras especies conocidas como *Calliandra calothyrsus* (23.9%), *Erythrina poeppigiana* (27.1%), *Gliricidia sepium* (25.45) y *Leucaena leucocephala* (26.5%) (Lascano, 1995). Por otra parte, la digestibilidad in vitro de la MS (DIVMS) del forraje de *C. argentea* (48%) fue mayor que el de *C. calothyrsus* (41%) pero menor que en *G. sepium* (51%), *E. fusca* (52%) y *L. leucocephala* (53%).

En otros estudios realizados por el CIAT se encontró que la DIVMS de *C. argentea* (53%) fue mayor que el de otras leguminosas adaptadas a suelos ácidos como *Codariocalyx giroides* (30%) y *Flemingia macrophylla* (20%), lo cual está asociado a su bajo contenido de taninos condensados (Lascano, 1995). Como resultado de su alto contenido de proteína cruda y bajos niveles de taninos, *C. argentea* es una excelente fuente de nitrógeno fermentable en el rumen (Wilson y Lascano, 1997).

2.5.2 *Leucaena leucocephala*

Leguminosa nativa de México y Centro América, es de gran potencial forrajero, una vez establecida no requiere de manejos complicados de pastoreo, existen reportes de praderas con mas de 15 años de establecidas y en producción, es una planta arbustiva o arbórea que llega a crecer más de 20 m de altura en forma silvestre. Sus hojas son bipinadas de 15 a 20 cm de longitud ,están compuestas por 10 a 15 pares de pequeños folíolos (pinas) de 4 a 7mm cada una. Las inflorescencias son esféricas y blancas, de dos a tres centímetros de diámetro, con 100 a 200 flores diminutas. Las vainas son planas y delgadas, contienen varias semillas elípticas y aplanadas, de color marrón. Se conocen tres grupos de cultivares: 1. Hawaii, arbustivos, de floración continua, usado para protección del suelo, leña y carbón. 2. Salvador, árboles de hasta 20 m de alto y 3. Perú, plantas bajas y ramificadas de uso forrajero.

Los suelos donde presenta su mejor desarrollo son los neutros o alcalinos con pH de 6.0 a 7.7, de textura arcillosa hasta arenosa no es recomendable sembrarla en suelos ácidos con pH menor de 5.5 ya que presenta un desarrollo raquítico, además es sensible a inundaciones.

2.5.3 *Zornia latifolia*

Zornia latifolia Sm. es una leguminosa oriunda y ampliamente distribuida en toda América del Sur y del Norte tropical hasta las antillas británicas; posiblemente a través de América Central hasta el sur de México y los Estados Unidos. Se extiende por el sur, hasta Río Grande del Sur en Brasil y hasta la región nororiental de la Argentina. Su principal hábitat son los campos abiertos y las regiones cubiertas de gramíneas. Se ha naturalizado en Africa occidental y el Congo. Se la conoce vulgarmente como tencilla, zornia, barba de burro, caminadora y latifolia, en regiones del trópico americano, es una leguminosa perenne posee tallos de 20 a 50 centímetros de largo, glabros o pubescentes, con un hábito de crecimiento decumbente y una ramificación intensa. Estipulas lanceoladas, estriadas, de hasta 1 centímetro de largo, hojas bifoliadas. Folíolos lanceolados oblongos, agudos en el ápice, de 1 a 4 centímetros de largo. Inflorescencia en espiga pedunculada terminal, con flores alternadas, de 1 a 35 por inflorescencia, bractéolas estipuliformes, de hasta 1.5 centímetro de largo, que casi cierran la flor, cáliz hialino, de 4 milímetros de largo, ciliado. Pétalos amarillos, de aproximadamente 1 centímetro de largo, de dos a ocho vainas con nudos, picos cortos, más o menos espinosas, con el margen inferior profundamente dentado, el margen superior casi recto, nudos redondeados, de 2 a 3 milímetros de largo y ancho.

Ha atraído la atención en América del Sur como una planta que se adapta bien a suelos ricos en aluminio en el Cerrado brasileño y en los Llanos Orientales de Colombia. Su activo crecimiento durante la estación seca es una de las características importantes. En los Llanos Orientales de Colombia, su rendimiento en materia seca oscila de 600 a 5000 kilogramos por hectárea. Se asocia bien con *Brachiaria decumbens* y *Andropogon gayanus*.

2.5.4 *Arachis pintoi*

Originaria de América del Sur, en la región del Belmonte, Bahía, Brasil, *Arachis* ha sido liberada en Australia, Colombia, Costa Rica y Honduras.

Es una planta herbácea, perenne de crecimiento rastrero y estolonífero con buena adaptación a las tierras bajas del trópico húmedo que cubre totalmente el suelo donde se establece, alcanza alturas de 15 a 20 cm cuando se encuentra en monocultivo y 40 cm cuando tiene competencia por sombreo con otras plantas. Las hojas son alternas compuestas, con cuatro folíolos ovados, de color verde claro a obscuro. El tallo es ramificado, circular, ligeramente aplanado, con entrenudos cortos y estolones que pueden alcanzar una longitud de 1.5 m. Su raíz es pivotante y crece hasta 30 cm de profundidad. La floración es indeterminada y continua, con escasa producción de flores en invierno, las inflorescencias son axilares en espigas, con un tubo calcinal (hipanto) de color rojizo, las flores son de color amarillo. Su mejor adaptación se obtiene en suelos de mediana fertilidad, tolera suelos ácidos con alta saturación de aluminio, aunque su mejor desarrollo y producción se obtiene en suelos de textura franca hasta arcillosa. El contenido de proteína promedio es de 16% y una digestibilidad de la M. S. de 64%. Como ecotipos más promisorios por su producción de forraje y persistencia a la defoliación se tienen CIAT- 22160 y CIAT-18744.

Arachis pintoi con su hábito de crecimiento estolonífero, ha mostrado gran potencial como pastoreo directo, las ganancias anuales obtenidas en novillos castrados pastoreando *A. pintoi* han sido de 130 a 200 kg cabeza y de 250 a 630 kg ha (Lascano 1994).

El efecto en la producción de leche ha sido estimado en Costa Rica. En la asociación de *A. pintoi* con *Cynodon nlemfuensis*, la producción de leche fue incrementada en un 17% (van Heurck, 1990); Actualmente la producción animal basada en *A. pintoi* es una realidad en áreas tropicales, incluso en regiones con 3-4 meses de estación seca (ejemplo, Llanos de Colombia, Lascano, 1994) y en tierras bajas ocasionalmente inundadas como en el Cerrado brasileño (Barcellos et al. 1997 y Pizarro 2002).

También es usado como cultivo de cobertura en diversos sistemas de explotación agrícola, cultivo de cobertura en café, banano, palma de aceite, cítricos, cocotero entre otros.

2.5.5 *Pueraria phaseoloides*

Originaria del sureste de Asia, es una leguminosa perenne, de crecimiento prostrado o enredadera, produce estolones fuerte que pueden llegar a medir mas de 10 m de longitud, sus nudos y entre nudos forman raíces abundantes en contacto del suelo húmedo, la planta forma una cubierta densa de mas de 1 m de altura, las raíces pueden penetrar hasta un 1.5 m de profundidad a dos años de establecida, posee tallos de color café , cubiertos de abundante pubescencia; sus hojas son trifoliadas, con foliolos largos de 5 a 12 cm de longitud y 10 cm de ancho, Las flores son en racimos, púrpuras y las vainas rectas de siete a ocho centímetros con semillas de color café de tres milímetros de largo, presenta contenidos de proteína durante el año, que varían de 16 a 19%, con una digestibilidad de la materia seca de 54 a 60%.

Se adapta bien a suelos ácidos con pH menores de 4.5 de textura arcillosa, se cultiva asociada con gramíneas. Es de buena palatabilidad. Posee lento establecimiento y baja resistencia al pastoreo continuo.

La siembra como cultivo puro, debe ser a chorrillo en líneas separadas de 80 cm con una densidad de 1 kg/ha de semilla pura germinable, en los meses de junio a septiembre.

2.5.6 *Gliricidia sepium*.

Es una planta arbórea distribuida en el golfo de México y zona del Pacífico, esta última de donde es nativa (Llera, 1993) alcanza alturas de hasta 15 m presenta flores de color morado y hojas redondeadas y trifoleadas redondeadas y pequeñas. (NFTA, 1986).

La presencia natural de la planta permite emplearse en diferentes usos, ya que no se presenta dificultad para multiplicarla, en las regiones de trópico seco el árbol pierde completamente las hojas cuando florece, produce una vaina dehiscente aplanada de color verde amarillento u oscura de 10 a 15 cm de largo, Para un óptimo crecimiento requiere un temperatura media anual de 22°C, una precipitación pluvial de 600 a 2500 mm, crece a 800 msnm, se adapta a gran diversidad de suelos: alfisoles, inceptisoles, entisoles, presenta una producción de 18 a 36 t/ha dependiendo la densidad de siembra y el corte, se presenta una mayor cantidad cuando se corta cada 60 días, su contenido de PC varía entre 19.2 a 22%, tiene una digestibilidad entre 57.5 a 62.9%

Es empleada como cerco vivo en los linderos y divisiones de potreros, también se utiliza como barrera de muro vivo para controlar la erosión de terrenos con fuertes pendientes. Esta especie también se encuentra en plantaciones naturales en países de centro América como Guatemala, el Salvador, Honduras y Nicaragua (CATIE, 1986)

2.6 LEGUMINOSAS EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL

La utilización de especies de leguminosas ya sean arbóreas o arbustivas es una actividad común en América Latina, África, y Australia (Devendra 1995). Sin embargo, en México se carece de esta cultura de utilización de las leguminosas como complemento nutricional, debido a que se carece de información de su valor nutricional y como utilizarlas en el balanceo de raciones.

Mucho del atraso en la evolución nutricional de las leguminosas tropicales para rumiantes ha sido debido a que no se cuenta con las técnicas de laboratorio adecuadas para determinar la calidad de la proteína por un lado, y por el otro lado a que las técnicas para determinar taninos y su afinidad por proteínas no estaban también dilucidadas. Actualmente se cuenta con técnicas para determinar las fracciones de proteína que son importantes desde el punto de vista nutricional para la alimentación de rumiantes.

Estas técnicas particionan la proteína en varias fracciones dependiendo de su solubilidad (Sniffen et al, 1992) estas son: Fracción A, B1, B2, B3 y C.

La fracción proteica "A" es nitrógeno no proteico (NNP) y la fracción "B1" es proteína verdadera que es casi completamente degradada en el rumen. Ambas fracciones se consideran como proteína soluble. La fracción "C" es medida como nitrógeno insoluble en solución detergente ácido (NIDA) y se asume que es indisponible. La fracción "B3" o lentamente degradable puede ser determinada por sustracción del valor obtenido del NIDA menos el nitrógeno insoluble en solución detergente neutro (NIDN). La fracción "B2", la cual es parcialmente degradable en el rumen dependiendo de las tasas de digestión y de pasaje, puede ser estimada usando la siguiente ecuación:

$$B2 = PC - (P_{sol} + B3 + C).$$

Con esta secuencia de análisis es posible determinar la disponibilidad de las proteínas de las leguminosas tropicales en la alimentación de rumiantes lo cual permitirá su inclusión en la dieta de una forma más racional.

2.7 Sistema de Carbohidratos y Proteínas Neto de Cornell (CNCPS)

En 1992, el Sistema de Proteínas y Carbohidratos Neto de Cornell (CNCPS), (Sniffen y col., 1992; Fox y col., 1992; Russell y col., 1992), aparece como una nueva aproximación a la evaluación de las dietas, estimación de los requerimientos nutritivos de bovinos y valor nutritivo de los alimentos.

Se comprende que los valores de los alimentos no son constantes y que dependen sobre todo del tiempo de retención en el tubo digestivo del animal y son afectados por la raza, el tamaño, y el nivel relativo de consumo y función metabólica del ganado. Este sistema toma en cuenta información sobre la tasa de pasaje y digestión, y la integra en relación al consumo y niveles de producción para dar evaluaciones dinámicas del alimento.

El CNCPS tiene ecuaciones que estiman la fermentación y pasaje de las fracciones de los carbohidratos y proteínas de los alimentos. Esta información puede ser usada como base para la predicción de energía metabolizable (EM) y proteína metabolizable (PM). El CNCPS asume que los alimentos están compuestos de proteína, carbohidratos, grasa, ceniza y agua.

La composición de los carbohidratos y las proteínas son después subdivididos por composición química, características físicas, degradación ruminal y características de digestibilidad postruminal. Las fracciones de proteína, carbohidratos, cenizas, grasa y agua en un alimento pueden ser derivadas a partir de los análisis químicos de laboratorio mencionados por Sniffen y col. (1992).

2.8 El Sistema de Proteínas y Carbohidratos Neto de Cornell y Vacas de Doble Propósito en los Trópicos

La eficiencia de producción de los bovinos tropicales, puede ser mejorada usando los modelos que toman en cuenta las variaciones en el comportamiento, mediante predicciones de requerimientos y utilización de los alimentos para condiciones específicas de producción. Para ser utilizados a nivel de rancho, el modelo debe usar datos de energía típicamente disponible.

Debido a que los datos requeridos no pueden estar disponibles en cada rancho, estos modelos deben permitir un ajuste lógico de los datos de la energía consumida para

cada situación, hasta que el comportamiento predicho y observado concuerden en ganancia diaria, cantidad y composición de la leche y cambios en la calificación de la condición corporal.

La respuesta observada para los cambios en el manejo puede ser explicada por efecto predecible en la fermentación ruminal, digestión intestinal, utilización de la energía y aminoácidos, y cantidad y composición de los productos finales. El CNCPS por lo tanto se aplica a una estructura biológicamente basada y jerarquizada en la evaluación de dietas para toda clase y amplia variación de bovinos, alimento, manejo y condiciones ambientales con el propósito de ajustar el requerimiento de nutrimentos y utilización de alimento.

Varios investigadores han usado el CNCPS en los trópicos. Urbina (1991) usando el CNCPS estimó la habilidad de la nutrición óptima y estrategias de crecimiento para vacas de doble propósito en Venezuela y Costa Rica. Sus resultados indican que el bajo consumo de nutrimentos de vacas en ranchos de doble propósito, fueron probablemente por situaciones de baja nutrición para sostener el promedio de desarrollo animal.

En adición, Nicholson (1991) usando el CNCPS para desarrollar en un modelo la optimización de los sistemas de producción de vacas de doble propósito en las partes bajas y húmedas de Venezuela, fundamentó varios problemas en la predicción del consumo de materia seca. Ellos obtuvieron el límite de consumo para FDN y materia seca, para animales cruzados por integración de relaciones empíricas desde Reid y col. (1988) y Willians y col. (1989).

Reynoso Campos (1998) usando como fuente el CNCPS para desarrollar un modelo de optimización de un sistema de producción de vacas de doble propósito en los trópicos de México, encontró dificultades en la predicción del consumo de materia seca. Él adoptó la ecuación compuesta de consumo de materia seca desarrollada por Traxler (1997) para superar ese problema.

Traxler (1997) hizo importantes contribuciones para adaptar el CNCPS a condiciones tropicales. Primero desarrolló una ecuación del consumo de materia seca para vacas lactantes consumiendo forrajes tropicales y después, desarrolló un modelo compuesto

usando el NRC 1984 para hembras de carne mas un componente lineal para producción de leche.

La ecuación predice bien para vacas que producen mas de 15 kg/día de leche, con 4 por ciento de grasa y con una dieta basada en forrajes tropicales conteniendo mas del 55 por ciento de FDN. El sugiere ajustar la predicción del consumo de materia seca desde este modelo por la adición de la cantidad de la tendencia de medias (1.7Kg) para valores predichos.

Este ajuste, cancela las medias de tendencia negativa en ecuaciones de consumo de materia seca de pastos templados, porque ellos no consideran la compensación del consumo de FDN que ingieren las vacas con forraje de alta FDN, con lo cual cubren sus necesidades de energía. El no ajustar es probablemente lo que justifica una sustancial baja en la producción diaria de leche.

Lanna y col. (1996) mejoraron la habilidad del CNCPS para predecir el desarrollo de las vacas en condiciones tropicales. Ellos adaptaron y validaron el CNCPS para raza cebú, sistemas de alimentación y condiciones ambientales en Brazil. Sus modificaciones incluyen composición química, peso corporal vacío, requerimiento de mantenimiento, ecuación de consumo, potencial de producción de leche y tasas de digestión en dietas de alta energía.

El CNCPS, con las modificaciones tropicales fue validado de nuevo en experimentos independientes, con datos de descripción del animal, alimento y manejo (Lanna y col., 1996). El NRC 1984 y 1989 fue validado usando la misma base de datos (Lanna y col. , 1996). La base de datos para la validación de los requerimientos para crecimiento se tomaron de 943 toros y novillos cebú, con 96 dietas.

En promedio, el peso vivo y la ganancia diaria de peso fueron de: 337 kg y 0.923 kg/d. Las regresiones fueron: para peso vivo $r^2 = 0.09 + r^2=0.90$; y para ganancia de peso $r^2=0.72$. Las regresiones forzadas hacia el origen de la tendencia indicaron un desvío de 2 por ciento para CNCPS y 20 por ciento para NRC 1984, r^2 de 0.62 y 0.46 respectivamente. La base de datos para producción de leche que se usaron en la validación, son de 178 vacas cruzadas con 18 dietas diferentes de bajo potencial de leche.

El análisis de sensibilidad indica que el NRC para leche (1989) subestima la producción de leche en gran parte por lo incorrecto de los requerimientos de mantenimiento. Ellos concluyen que las recomendaciones del CNCPS son tan precisas como el NRC. Los mecanismos naturales del CNCPS permiten actualizaciones continuas de los parámetros de los animales y el alimento, y pueden proveer de estimaciones más dinámicas y precisas de requerimientos de nutrimentos en el futuro.

En los últimos años, se han desarrollado nuevos métodos para la evaluación nutritiva de los alimentos. El Nivel 2 del NRC de carne, 1996; y el Sistema de Carbohidratos y Proteínas Neto de Cornell (CNCPS) (Sniffen y col., 1992; Fox y col., 1992; Russell y col., 1992). En estos modelos, los nutrimentos disponibles están calculados en base a una competencia entre tasa de digestión y la tasa de pasaje. Para la predicción exacta de nutrimentos en estos modelos, es esencial la información sobre la cantidad del nutrimento disponible, que va a estar dada por la velocidad de la digestión (tasa de digestión) y de pasaje.

Para leguminosas tropicales, esta información está dispersa e incompleta, lo que dificulta el uso del CNCPS en los trópicos. Debido a la gran posibilidad de utilizar leguminosas como fuente de nutrimentos para los rumiantes, la información sobre la cantidad de proteínas y carbohidratos y sus tasas de digestión es un prerrequisito para modelar la economía nutritiva de los rumiantes.

La validación del CNCPS es capaz de representar exactamente el desarrollo de animales de carne y vacas lecheras con dietas típicas del norte de los Estados Unidos de América (Fox y col., 1995). Actualmente se tienen pocos datos de forrajes para vacas de doble propósito en los trópicos. Lanna y col., (1996) proporcionaron información para modificar el CNCPS y así predecir los requerimientos de mantenimiento, el tamaño, la madurez y el pico de producción de leche, lo que refleja mejor el desarrollo del animal en los trópicos. Sin embargo, es necesaria más investigación para tener información que mejore las predicciones del valor nutritivo de los alimentos, consumo de materia seca y estrés por el medio ambiente.

HIPOTESIS

La concentración y la distribución de las fracciones de nitrógeno en las leguminosas tropicales se afectan por la especie y la edad al corte

La energía metabolizable y la proteína metabolizable de las leguminosa tropicales se ven afectadas por la especie y la edad al corte

OBJETIVOS

Determinar las fracciones de nitrógeno, carbohidratos y fibra de 7 leguminosas forrajeras tropicales comunes en la zona centro del estado de Veracruz a 4 diferentes edades de corte (44, 61, 101 Y 162 días).

Estimar valores de energía metabolizable y proteína metabolizable del forraje para el ganado de doble propósito utilizando el Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS).

METAS

Dar a conocer la información sobre las fracciones de nitrógeno, carbohidratos y fibra de 7 leguminosas forrajeras tropicales comunes en la zona centro del estado de Veracruz a 4 diferentes edades de corte (44, 61, 101 Y 162 días).

Conformar una base de datos con los valores de energía y proteína metabolizable de las 7 leguminosas en estudio, con la cual se puedan brindar recomendaciones de su uso en la alimentación de ganado de doble propósito.

3.0 MATERIAL Y METODOS

3.1 SITIO EXPERIMENTAL, CLIMA Y SUELO

El estudio se condujo en forma conjunta entre la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UV, a través del Laboratorio de Nutrición Animal ubicado en la Posta Zootecnica Torreón del Molino, el Laboratorio de Nutrición Animal del Campo Experimental "La Posta" del INIFAP, y del jardín de introducción de nuevas leguminosas del Campo Experimental Playa Vicente del INIFAP.

La región tiene un clima tropical subhúmedo tipo Aw_1 (García, 1973). De acuerdo a los registros del Centro de previsión del Golfo Veracruz, la precipitación promedio anual fue de 1728 mm con una estación lluviosa de Junio a Noviembre. La temperatura promedio anual fue de 25°C con un máximo de 35°C y un mínimo de 15°C y una fluctuación estacional de 3°C. La humedad relativa fue de 81%. El principal fenómeno meteorológico son los vientos huracanados del norte durante los meses de Octubre a Marzo, con rachas de hasta 100 km/h. El suelo está clasificado como Arenosol, predominantemente arenoso con más de 15 % de arcilla. El pH del suelo esta entre 5.4 y 5.6 con el 1.15 % de materia orgánica (Castillo, 2000) y el contenido de NO_3 en promedio es de 9.5 ppm.

3.2 PARCELAS EXPERIMENTALES Y MÉTODO DE MUESTREO

Las especies de leguminosas, *Arachys pintoi* (Cacahuatillo), *Pueraria phaseoloides* (Kudzú), *Flemigia* (Flemigia), *Cratylia argentea* (Cratylia), *Zornia* (Zornia), *Gliricidia sepium* (Cocoite), y *Leucaena leucocephala* (Leucaena), fueron seleccionadas debido a que ellas están siendo actualmente introducidas al campo veracruzano y se desconocen sus características nutritivas bajo nuestras condiciones. Las leguminosas fueron establecidas en parcelas con dimensiones de 2 x 5 m. Al inicio del experimento todas las parcelas fueron uniformizadas. Después de 44, 61, 101 y 162 días al rebrote, las hojas de las leguminosas fueron cortadas. El primer periodo muestreo comprendió de Junio a Diciembre del 2002, y el segundo de Agosto del 2002 a Febrero del 2003. Al momento del corte se determinó materia verde (ton/ ha) utilizando una regla de 1.0 m de largo y cortando las hojas contenidas en un área de un metro cuadrado. Se tomó una muestra de 250 g para secar a 100°C durante 24 h para determinar Materia Seca, y se tomaron además muestras de 500 g las que se secaron a 55°C durante 48 h para posterior análisis de laboratorio.

3.3 ANÁLISIS DE LABORATORIO

Todas las muestras fueron molidas en un molino Wiley utilizando una malla de 1 mm (Arthur H. Thomas Co. Philadelphia, PA. Modelo 4). Procedimientos estándar del AOAC (1990) fueron usados para medir Materia Seca, Cenizas, y Extracto Etéreo. Proteína Cruda y fracciones de Nitrógeno utilizando el macrokjeldahl. Las fracciones de fibra por el sistema detergente de Van Soest, la digestibilidad *in vitro* se llevo a cabo mediante la técnica descrita por Pell y Schofield (1993).

Las técnicas de laboratorio para estimar las fracciones de proteína de las leguminosas utilizadas fueron las desarrolladas por Licitra *et al* 1996 (Anexo 1) que son:

- Determinación de nitrógeno no proteico (**NNP**)
- Determinación de proteína soluble utilizando amortiguador buffer de borato fosfato.
- Determinación de proteína en las paredes celulares utilizando solución Neutro detergente.
- Determinación de proteína en las paredes celulares utilizando solución ácido detergente.

Para las digestiones *invitro* se utilizó el amortiguador fosfato-bicarbonato de Goering y Van Soest (1970). El medio de cultivo fue hervido para remover gases en disolución, se dejó enfriar a 39°C, se le agregó cisteína (0.625 mg/ml), y el pH se ajustó a 6.8 en caso de que fuera necesario. El sulfato de sodio fue reemplazado por una cantidad igual de cloruro de cisteína. El líquido ruminal se colectó aproximadamente 6 h después de haber alimentado a una vaca no lactante Suizo Pardo mantenida en pastoreo consumiendo pasto Estrella de Africa (*Cynodon plectostachyus*) y suplementada con concentrado comercial para ganado lechero. Al inicio de la fermentación, cada frasco de 120 ml, contenía 2 ml de agua destilada, 14 ml de medio de cultivo, 4 ml de líquido ruminal y 200 mg de muestra de la leguminosa en estudio.

El tiempo de incubación para determinar la desaparición de materia seca o paredes celulares fue a las 48 h. La FDN residual (Pell y Schofield, 1993) fue determinada en ese punto con el cual se estimó la digestibilidad in vitro en porcentaje para cada una de las leguminosas en cada corte. La digestibilidad verdadera de la materia orgánica se considero como equivalente a TND (total de nutrientes digestibles)

3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para el análisis estadístico de la información se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con un arreglo factorial 7X4X2, para determinar los efectos de especie, edad al corte y réplica. Los contrastes entre los factores estimados se determinaron usando el procedimiento de Tukey.

El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ij} = M + E_i + C_j + R_k + EC_{ij} + E_{ijk}$$

En donde:

M = Es la media poblacional

E_i = Efecto de iésima especie

C_j = Efecto del jésimo corte

R_k = Efecto de la késima réplica

EC_{ij} = Efecto de la interacción de la iésima especie en el iésimo corte

E_{ijk} = El error experimental

Por otro lado, el rendimiento de las leguminosas se estimó utilizando los valores de producción de materia verde, materia seca y materia orgánica en cada corte. Los análisis estadísticos fueron obtenidos usando el programa Minitab, Versión 12 (Minitab Inc., State College, Pa. USA)

Los resultados de los análisis practicados a las leguminosas evaluadas, se utilizaron como base de datos para el modelo computacional CNCPS versión 5.034 donde se generaron las variables de energía y proteína metabolizables de las leguminosas tropicales, y predecir el comportamiento productivo del ganado bovino de doble propósito.

4.0 RESULTADOS

4.1 RENDIMIENTO EN PRODUCCIÓN DE HOJA DE LAS LEGUMINOSAS EN ESTUDIO, POR ESPECIE.

Los resultados de rendimiento (kg/ha) se muestran por especie en el cuadro 1. Las variedades de *Cratylia* y *Zornia* presentan los valores mas altos de producción de materia verde, materia seca y materia organica. Destacan particularmente por rendimientos de mas de 3,000 kg/ha de Materia Seca. La leguminosa que mostro los rendimientos mas bajos fue el kudzu con producciones de materia seca tan solo de 827 kg/ha. Cabe reiterar que solo se cosecharon las hojas. Las demás leguminosas lograron producciones intermedias alrededor de los 1753 kg/ha.

Cuadro 1. Producción de forraje verde, seco, y orgánico por leguminosa.

Leguminosa	MV, kg/ha	MS, kg/ha	MO, kg/ha
Arachys	7976.3 ^{ab}	1748.4 ^{ab}	1615.7 ^{ab}
<i>Gliricidia</i>	5190.3 ^{ab}	1702.3 ^{ab}	1541.5 ^{ab}
<i>Cratylia</i>	12203.7 ^a	3423.2 ^a	3114.5 ^a
<i>Flemigia</i>	5771.9 ^{ab}	1691.2 ^{ab}	1606.8 ^{ab}
<i>Kudzú</i>	3905.5 ^b	827 ^b	785.7 ^b
<i>Leucaena</i>	6623.2 ^{ab}	1870.2 ^{ab}	1724.1 ^{ab}
<i>Zornia</i>	12506.5 ^a	3272.3 ^a	3147 ^a
Dev Std	967.09	524.89	483.05

8 observaciones x leguminosa. Distinta literal por renglón muestra diferencia estadística ($P < 0.05$)

¹MV=Materia verde; MS=Materia seca; MO=Materia orgánica; Dev Std=Desviacion Estandar

4.2 RENDIMIENTO DE LAS LEGUMINOSAS EN ESTUDIO POR EDAD AL CORTE.

El rendimiento de un forraje está relacionado directamente con el crecimiento de la planta. En el cuadro 2, se aprecia como se incrementa en forma sostenida la producción de materia seca, de 1,023 a 3,086 kg/ha por corte de los 44 a los 162 días. La tendencia es similar para materia organica ya que el contenido de cenizas no cambia con la edad al corte. Sin embargo, la magnitud del incremento es diferente para materia verde debido a que el contenido de materia seca (%) cambia con la edad (ver cuadro 4).

Cuadro 2. Producción de forraje verde, seco y orgánico de las leguminosas por edad al corte

Edad,d	MV, kg/ha	MS, kg/ha	MO, kg/ha
44	4,020.9 ^b	1,023.6 ^b	950.5 ^a
61	8,116.4 ^{ab}	1,788.4 ^{ab}	1,662.7 ^{ab}
101	8,579.7 ^{ab}	2,407.3 ^{ab}	2,239.3 ^{ab}
162	10,241.4 ^a	3,086.3 ^a	2,881.8 ^b
Dev Std	1,486.98	396.78	365.15

14 observaciones x edad. Distinta literal por renglón muestra diferencia estadística ($P < 0.05$)

¹MV=Materia verde; MS=Materia seca; MO=Materia orgánica; Dev Std=Desviación Estandar

Los contenidos de materia seca (%) de las leguminosas son diferentes (Cuadro 3) esto quiere decir que una son más suculentas que otras. Las leguminosas rastreras *Arachys* y *Kudzu* tienen menor contenido de MS (alrededor de 21%) mientras que las arbustivas *Gliricidia* y *Leucaena* tienen los valores más altos (aproximadamente 30% MS). *Gliricidia* y *Cratylia* contienen la mayor cantidad de cenizas (9.5%), y *Kudzu* y *Zornia* tienen la menor cantidad (4%). El contenido de cenizas repercute en las cantidades de materia orgánica.

Los porcentajes de proteína cruda están en los rangos reportados por la literatura y van de 14.5% para *Zornia* hasta 21.0% para *Leucaena*, los demás promedian 16.8%. El contenido de pared celular representada por la FDN, agrupa a las leguminosas aquí estudiadas en dos grupos: altas y bajas en FDN. *Arachys*, *Gliricidia* y *Leucaena* tienen 40% de FDN, y *Cratylia*, *Flemigia*, *Kudzu* y *Zornia* contienen 50% de FDN.

Cuadro 3. Composición química nutricional por leguminosa

LEGUMINOSA	MS, %	PC, %	Cenizas, %	EE, %	FDN, %
<i>ARACHYS</i>	21.8 ^a	15.8 ^{bc}	7.9 ^{bc}	2.6 ^{bc}	40.4 ^a
<i>GLIRICIDIA</i>	33.4 ^c	17.8 ^b	9.5 ^c	5.2 ^a	40.4 ^a
<i>CRATYLIA</i>	25.8 ^{ab}	18.4 ^a	9.4 ^c	3.1 ^{bc}	47.6 ^b
<i>FLEMIGIA</i>	28.8 ^{bc}	15.8 ^{bc}	5.1 ^a	4.7 ^{ab}	54.7 ^c
<i>KUDZU</i>	20.8 ^a	16.1 ^{ab}	4.9 ^a	4.5 ^a	48.9 ^b
<i>LEUCAENA</i>	29.0 ^{bc}	21.2 ^a	7.5 ^b	3.7 ^{ab}	40.3 ^a
<i>ZORNIA</i>	27.5 ^{abc}	14.5 ^c	3.8 ^a	1.7 ^c	51.6 ^{bc}
Dev Std	1.2	0.59	0.4	0.4	1.041

La proporción de Materia Seca se incrementa debido a la edad asociado a un proceso de madurez que se refleja en un menor contenido de agua en la hoja. El cambio va de 22.5 a 30.3% de MS. La PC tiene un patrón de comportamiento inverso al crecimiento

de la planta, es decir, disminuye con la edad, de 18.6% a los 44 días a 15.2% a los 162 días; causado esto por una menor actividad metabólica de la planta y por menor proporción de contenido celular que es donde se encuentra la mayor parte de la proteína de la planta. Aunque el contenido de FDN va asociado al crecimiento del forraje en el caso de las gramíneas, en leguminosas este efecto no es muy manifiesto, por lo tanto la FDN no cambia con la edad. Cenizas y Extracto Etereo tampoco cambian.

Cuadro 4. Composición química nutricional por edad al corte

EDAD	MS, %	PC, %	FDN, %	Cenizas, %	EE, %
44	22.5 ^a	18.6 ^a	45.2 ^a	7.0 ^a	3.3 ^a
61	25.3 ^{ab}	17.5 ^a	45.6 ^a	7.2 ^a	3.5 ^a
101	28.8 ^{bc}	17.0 ^{ab}	46.9 ^a	6.8 ^a	3.9 ^a
162	30.3 ^c	15.2 ^b	47.3 ^a	6.5 ^a	4.0 ^a
Dev	1.2	0.45	0.79	0.29 ^a	0.3
Std					

En el Cuadro 5 se presenta la información correspondiente a las fracciones de fibra mas importantes desde el punto de vista nutricional, como se había comentado en la discusión del Cuadro 3, hay leguminosas bajas y altas en FDN. La FDA no tiene tan marcada esta diferencia. Destacan la *Leucaena* y la *Gliricidia* por tener los valores mas bajos (17.8 y 24.3 respectivamente). Esta característica deberá impactar positivamente en el valor nutricional de estas leguminosas. El resto tienen en promedio 33.6%. Lignina es un factor de in digestibilidad de los forrajes, las nuevas variedades como *Flemigia* y *Zornia* presentan cantidades altas de lignina seguidas por *Cratylia* y *Kudzu* las mejores parecen ser las ya conocidas *Arachys*, *Gliricidia* y *Leucaena*. Esto se demuestra al observar los resultados de la digestibilidad in vitro de la materia orgánica (Cuadro 5) que reflejan la calidad de la fibra de las leguminosas, siendo la de mayor calidad el *Arachys* y la mas pobre la *Flemigia*. *Zornia* es un caso a observar ya que a pesar de mostrar alto contenido de fibra y lignina, su DIVMO resulto ser la mas alta. Mucho influye su bajo contenido de cenizas (Cuadro 3).

Cuadro 5. Fracciones de fibra por especie de leguminosa

LEGUMINOSA	FDN,%MS	FDA,%MS	LIGNINA,% MS	DIVMO, %
<i>ARACHYS</i>	40.4 ^a	30.1 ^c	8.8 ^{ab}	75.3 ^{ab}
<i>GLIRICIDIA</i>	40.4 ^a	24.3 ^b	7.7 ^{ab}	69.7 ^b
<i>CRATYLIA</i>	47.6 ^b	31.1 ^c	9.8 ^b	54.0 ^c
<i>FLEMIGIA</i>	54.7 ^c	33.6 ^c	14.1 ^c	33.5 ^d
<i>KUDZU</i>	48.9 ^b	33.4 ^c	9.5 ^b	66.1 ^{bc}
<i>LEUCAENA</i>	40.3 ^a	17.8 ^a	6.0 ^a	72.5 ^{ab}
<i>ZORNIA</i>	51.6 ^{bc}	39.6 ^d	10.1 ^b	84.1 ^a
StDev	1.04	1.21	0.66	2.78

Al evaluar las fracciones de fibra por edad al corte (Cuadro 6), la cantidad de FDN no cambia como suele suceder en gramíneas en las que esta fracción se incrementa con la edad. No obstante, la FDA sufre un dramático incremento conforme la leguminosa madura en parte asociado a una lignificación de la misma. Es decir, la cantidad de la fibra es la misma pero su calidad disminuye. Como se demuestra con la DIVMO que disminuye 11.2 puntos porcentuales de los 44 a los 101 días al corte.

Cuadro 6. Fracciones de fibra por edad al corte

EDAD,d	FDN, %MS	FDA, %MS	LIGNINA, % MS	DIVMO, %
44	45.2 ^a	24.3 ^a	7.3 ^a	71.4 ^a
61	45.6 ^a	28.6 ^b	8.1 ^a	68.1 ^{ab}
101	46.9 ^a	32.1 ^c	11.3 ^b	60.2 ^b
162	47.3 ^a	34.9 ^c	11.1 ^b	60.6 ^b
Dev Std	0.97	0.91	0.50	2.1

LITERATURA CONSULTADA

Ara, M. A., M. De La Torre, y C. Reyes. 1998. Investigación en IVITA-Pucallpa. En Taller Internacional sobre actividades de TROPILECHE. 24-26 de Febrero de 1998. Atenas, Costa Rica con leguminosas adaptadas a suelos ácidos. *Pasturas Tropicales* 13(3):2-10.

Favaretto, V., R.A. Reiss, P. I. Vieira y E.B. Malheiros. 1985 efeito da adubacao nitrogenada o de leguminosa no ganho de peso vivo de bovinos em pastagens de capim Coloniao. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 475-482

Introducción y evaluación de leguminosas forrajeras arbustivas en el Cerrado brasileño.

Pizarro, E. A.; Carvalho, M. A. y Ramos, A. K. B. 1996. En: Pizarro, E. A. y Coradin, L. (eds.). Potencial del género *Cratylia* como leguminosa forrajera. *Memorias del Taller de Trabajo sobre Cratylia*. Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT. Cali, Colombia. Documento de Trabajo No. 158. p. 40-49.

Lascano, C. E. 1993. Nutritive value and animal production of forage *Arachis*. p. 109-121. En P. C. Kerridge and B. Hardy (ed.) *Biology and agronomy of forage Arachis*. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia.

Lascano, C. E. y P. Avila. 1991. Potencial de producción de leche en pasturas solas y asociadas con leguminosas adaptadas a suelos ácidos. *Pasturas Tropicales* 13(3):2-10.

Lascano, C. E. y P. Avila. 1991. Potencial de producción de leche en pasturas solas y asociadas

Lascano, C. E., P. Avila, G. Ramírez, y M. C. Amézquita. 1997. Fuentes de variación en la producción y composición de la leche de vacas en un sistema de pastoreo secuencial. p. 3-14. En C. E. Lascano y F. Holman (ed.) *Conceptos y metodologías de investigación en fincas con sistemas de producción animal de doble propósito*. Consorcio TROPILECHE. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia.

Lascano, C., J. C. Rodríguez, y P. Avila. 1990. Niveles de urea en la leche como un indicativo del consumo de leguminosas tropicales por animales en pastoreo. *Pasturas Tropicales* 12(3):38-40.

Michelsen, H. 1990. Análisis del desarrollo de la producción de leche en la Amazonía en el caso de Caqueta-Colombia. Documento de trabajo 60 CIAT-Cali.

Moe, P.W. y Tyrrell, H. F. 1975. Efficiency of conversion of digested energy to milk. *Journal of Dairy Science* 58 (4):602-610.

Mosquera, P. y C. Lascano. 1992. Producción de leche de vacas en pasturas de *Brachiaria decumbens* solo y con acceso controlado a bancos de proteína. *Pasturas Tropicales* 14(1):2-10.

Mosquera, P. y C. Lascano. 1992. Producción de leche de vacas en pasturas de *Brachiaria decumbens* solo y con acceso controlado a bancos de proteína. *Pasturas Tropicales* 14(1):2-10.

Pinedo, L.B. 1986. Productividad animal en *andropogon gayanus* bajo pastoreo. I reunión de la red internacional de evaluación de pastos tropicales. Potencial del género *Cratylia* como leguminosa forrajera.

Pizarro, E. A. y Coradin, L. 1996. (eds.). Memorias del Taller de Trabajo sobre *Cratylia*. Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT, Cali, Colombia. Documento de Trabajo No. 158. 118 p.

Reátegui, K. 1998. Medición de la producción de leche usando pasturas mejoradas con pequeños productores en Pucallpa, Perú. En Taller Internacional sobre actividades de TROPILECHE. 24-26 de Febrero de 1998. Atenas, Costa Rica (datos no publicados).

Robert F. B., Darrell A. M., C. J. N., 1995. Forages- An introduction to grassland agriculture. Editorial: Iowa State University

Romero, F. y J. Gonzalez. 1998. Produciendo más leche mediante pasturas asociadas con *Arachis Pintoi*. p. 1-2. En Hoja informativa Consorcio TROPILECHE. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia.

Shaw, N. H., L. Mannelje. 1970. Studies on spear grass pasture in central coastal Queensland. The effect of fertilizer, stocking rate, and oversowing with *Stilosantes humillis* on beef production and botanical composition. Trop. Grassl. 43-56

Stobbs, T. H. 1976. Milk production per cow and per hectare from tropical pastures. p. 129-146. En Seminario Internacional de Ganadería Tropical. FIRA. Acapulco, México.

Suárez, S., J. Rubio, C. Franco, R. Vera, E. A. Pizarro, y M. C. Amézquita. 1987. *Leucaena leucocephala*: producción, y composición de leche y selección de ecotipos con animales en pastoreo. Pasturas Tropicales 9(2):11-17.

Sniffen, C. J., O'Connor J. D., Van Soest P. J., Fox D. G. and Russell J. B. 1992. A net carbohydrate and protein availability (CNCPS). J. Animal. Sci. 70:3562-3577

Ulrich, C., R. R. Vera, y J. H. Weniger. 1994. Producción de leche con vacas de doble propósito en pasturas solas y asociadas con leguminosas. Pasturas Tropicales. 16(3):27-30.

Lascano Carlos E. 1995. Calidad nutritiva de *Cratylia argentea*. En: Pizarro, E. A y Coradin, L (eds). EMBRAPA, CENARGEN, CPAC y CIAT, Memorias Taller sobre *Cratylia* realizado del 19 al 20 de julio de 1995 en Brasilia, Brasil. p. 83-97.

Wilson, Q.T y Lascano, C.E 1997. *Cratylia argentea* como suplemento de un heno de gramínea de baja calidad utilizado por ovinos. Pasturas Tropicales 19: 2-8.

ANEXO 1
TECNICAS DE LABORATORIO PARA FRACCIONES DE NITROGENO
DETERMINACION DE NITROGENO TOTAL

Principio:

El nitrógeno es oxidado a $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ por digestión con H_2SO_4 concentrado. Lo digerido se alcaliniza con NaOH concentrado y el NH_3 es destilado y colectado en una solución de ácido bórico al 4%. El borato de amonio producido es titulado con HCl estándar. La cantidad de nitrógeno obtenido es multiplicada por el factor 6.25 para llegar al contenido de proteína cruda de la muestra.

Reactivos:

Acido sulfúrico concentrado 93-96%

Mezcla digestora: 141g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a 3kg de Na_2SO_4 anhidro

Perlas de vidrio

Hidróxido de sodio al 50%: 3kg de NaOH en 2.9L de agua destilada

Acido bórico: 720g en 18L de agua destilada + 120mL de mezcla indicadora

Mezcla indicadora: 0.625g de rojo de metilo y 0.480g de azul de metileno en 500 ml de alcohol metílico al 95%.

Acido clorhídrico: 147 mL de HCl concentrado en 18L de H_2O da una solución 0.1N. Estandarizar con NaOH estándar.

Procedimiento:

1. Pesar 1-2g de muestra y colocar en un matraz de digestión de 800mL. Prepare un blanco.
2. Agregue una cucharada cafetera de mezcla digestora y adicione 25mL de H_2SO_4 concentrado.
3. En las parrillas de digestión, digiera a calor bajo hasta que el humo cese. Gire los matraces para evitar espuma (ii use guantes!!!).
4. Gire la perilla a calor alto y hierva por $\frac{3}{4}$ de hora después de que el color del contenido halla girado a verde.
5. Deje enfriar por alrededor de 20 minutos y agregue cuidadosamente 450mL de agua.
6. Cuando el contenido del matraz esté completamente frío, y todo el material en solución, empiece el proceso de destilación.

7. Encienda las parrillas de destilación a calor alto, deje que se calienten, abra el agua del condensador y espere hasta que el termómetro marque menos de 70°C.
8. Llene los matraces de titulación con la solución de ácido bórico (50mL) y colóquelos en su lugar.
9. Agregue una cucharada cafetera copeteada de perlas de vidrio a cada matraz.
10. Agregue 50mL de solución de NaOH al 50% al matraz Kjeldahl.
11. Conecte el tapón de destilación al matraz y agite el contenido hasta que vire a azul. Si el contenido no vira a azul o café no continúe y agregue más NaOH.
12. Gire la perilla a calor medio o bajo cuando el hervor empiece.
13. Destile aproximadamente hasta la marca de 150mL en el matraz de titulación.
14. Para parar la destilación, primero baje el matraz de titulación de tal manera que la manguera no esté dentro del destilado. Entonces apague la parrilla de destilación.
15. No deje el cuarto del Kjeldahl durante la destilación. Vigile el brinco de las perlas de vidrio.

Cálculos:

Un equivalente de HCl reacciona cuantitativamente con un equivalente de N como borato de amonio.

Por lo tanto:

La normalidad del ácido * 0.014 = g de N equivalente a 1mL de ácido.

Como la proteína contiene cerca de 16% de N; g N/mL de ácido * 6.25 = g proteína/mL.

Por consiguiente:

% proteína = (((mL HCl – mL blanco) * 6.25)/peso de la muestra) * 100

g de N = (mL HCl – mL blanco) * equivalente de N

Nota: El punto final de la titulación está entre verde y púrpura. El color resultante es gris.

DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO NO PROTEICO (NNP) USANDO ÁCIDO TÚNGSTICO

- REACTIVOS:
- 1) Tungstato de sodio ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) al 10%, solución en agua, 0.30M.
 - 2) Ácido Sulfúrico 1N (H_2SO_4). 27.2 ml/L = 1N

- PROCEDIMIENTO:
- 1) Pesar 0.5 g de muestra en matraz de 125 ml.
 - 2) Adicionar 50 ml de agua destilada fría.
 - 3) Adicionar 8 ml de solución de $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ al 10% ².
 - 4) Reposar a 20-25 °C por 30 min
 - 5) Llevar a **pH 2** adicionando 10 ml de H_2SO_4 1N ² (chechar pH con pHmetro).
 - 6) Reposar toda la noche a temperatura ambiente.
 - 7) Filtrar con papel filtro No. 54 o 541 (humedecer el papel filtro con agua destilada antes de adicionar la muestra), por gravedad o con vacío. **Sí el primer filtrado es turbio, refiltrar.** Sí se usa vacío, debe usarse un matraz que permita que cualquier filtrado turbio pueda ser reciclado al embudo.
 - 8) Lavar dos veces con agua destilada fría.
 - 9) Transferir el papel filtro a matraz Kjeldahl y determinar nitrógeno residual.
 - 10) Calcular NNP restando el nitrógeno residual al nitrógeno total.

² Muestras con bajo contenido de proteína (< 20 %PC) pueden ser tratadas con 5 ml de solución de tungstato de sodio y 6 -7 ml de ácido sulfúrico 1N.

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA SOLUBLE
(NITRÓGENO SOLUBLE EN BUFFER)

REACTIVOS: Solución Buffer Borato – Fosfato, pH 6.8

Fosfato monosódico ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	12.20 g / L
Tetraborato de sodio ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)	8.91 g / L
Alcohol butyl terciario	100 ml/ L
Azida de sodio (Solución al 10% preparada el mismo día)	

- PROCEDIMIENTO:
- 1) Pesar 0.5 g de muestra seca en Matraz de 125 ml.
 - 2) Adicionar 50 ml de Sol. Buffer borato-fosfato.
 - 3) Adicionar 1 ml de Sol. Azida de sodio.
 - 4) Reposar por 3 horas a temperatura ambiente.
 - 5) Filtrar a través de papel filtro Whatman # 541 usando vacío suave.
 - 6) Lavar el residuo con 250 ml de agua destilada fría.
 - 7) Estimar el N en el residuo por Kjeldahl. Esto representa la fracción de proteína insoluble. La proteína soluble es calculada como la diferencia con la proteína verdadera (determinada por la técnica de NNP) y la proteína insoluble.

NOTA. Si es usada la técnica del ácido túngstico, la proteína soluble incluirá péptidos más cortos.