

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS

DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS
POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS



EFFECTO DEL TIEMPO DE REBROTE Y ALTURA DE PODA SOBRE
LA CONCENTRACIÓN EN TANINOS CONDENSADOS Y LA
DEGRADACIÓN in situ DE *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp.

TESIS

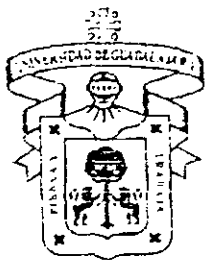
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS PECUARIAS

PRESENTA:

MARÍA DEL CARMEN YOLANDA PARTIDA ORTÍZ

DIRECTOR: DR. JOSÉ MANUEL PALMA GARCÍA
ASESORES: Ph.D. JOSÉ ROGELIO OROZCO HERNÁNDEZ
DRA. IRMA ELIZONDO ESPINOZA

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal. Noviembre 2000



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS
COORDINACIÓN DE POSGRADO

**H. CUERPO COLEGIADO
DEL POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS DE LA
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
PRESENTE.**

Por éste conducto nos permitimos enviar la **VERSION FINAL DE LA TESIS** que desarrolló el pasante del Programa de Maestría en Ciencias Pecuarias (PICP) de la Universidad de Guadalajara, **Q.F.B. Maria del Carmen Yolanda Partida Ortiz**, cuyo título es:

"EFECTO DEL TIEMPO DE REBROTE Y ALTURA DE PODA SOBRE LA CONCENTRACION EN TANINOS CONDENSADOS Y LA DEGRADACION in situ DE Glaricidia sepium (Jacq) Walp".

Trabajo dirigido por: Dr. JOSE MANUEL PALMA GARCIA.

Los que suscriben la presente avalan esta versión, la cual fue revisada y reúne los requisitos teóricos y metodológicos necesarios.

ATENTAMENTE

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal. a 29 de Septiembre de 2000

REVISOR

Dr. JACINTO BAÑUELOS PINEDA

REVISOR

M. en C. ESTHER ALBARRÁN RODRÍGUEZ

REVISOR

Dr. DELIA GUILERMINA GONZALEZ AGUILAR

REVISOR

M. en C. WALDINA P. REYES VELÁZQUEZ

REVISOR

M. en C. MARIO ALBERTO RUIZ LOPEZ

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Nutrición del Departamento de Producción Animal, y en el Laboratorio de Fisico-Química Alimentaria del Departamento de Salud Pública, adscritos a la División de Ciencias Veterinarias del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, excepto la determinación de taninos condensados y fenoles totales que se efectuó en el CENID-Microbiología-INIFAP, de México, D.F.

AGRADECIMIENTOS

INSTITUCIONALES:

Centro Universitario de Investigación y Desarrollo Pecuario (CUIDA), de la Universidad de Colima, México.

SIMORELOS-CONACYT. Proyecto 96 – 01 – 072

CENID – Microbiología – INIFAP, México, D. F.

PERSONALES:

Dr. José Manuel Palma García
Ph. D. José Rogelio Orozco Hernández
Dra. Irma Elizondo Espinoza.
Dr. Agustín Ramírez Alvarez
Dr. Juan López
M. en C: Ricardo Nuño Romero
M. en C: Claudia Elena Romero Lara
Dra. Irma Tejada de Hernández

MIEMBROS DEL JURADO:

Dr. Jacinto Bañuelos Pineda
Dra. Delia Guillermina González Aguilar
M. en C: Esther Albarrán Rodríguez
M. en C: Waldina Patricia Reyes Velázquez
M. en C: Mario Alberto Ruiz López

Página

i

iii

1

3

3

6

7

7

8

9

9

10

10

11

12

14

14

14

14

18

21

22

24

25

ar sus efectos

25

26

28

31

32

33

34

34

34

7. MATERIAL Y MÉTODOS	35
7.1 Recolección y preparación de muestras	35
7.2 Caracterización química nutricional	36
7.2.1. Métodos analíticos	36
7.3 Contenido en taninos condensados y fenoles	37
7.3.1. Reactivos	37
7.3.2. Preparación de estándares	37
7.3.3. Extracción de fenoles y taninos	38
7.3.4. Taninos condensados libres	38
7.3.5. Taninos condensados adheridos a proteína	39
7.3.6. Taninos condensados adheridos a fibra	39
7.3.7. Reactivos para fenoles	40
7.3.8. Preparación de estándar para fenoles	40
7.3.9. Método del azul de Prusia para fenoles	40
7.4 Degradación <i>in situ</i> de materia seca y nitrógeno	40
7.4.1 Método	40
7.5 Diseño estadístico	43
8 RESULTADOS	44
8.1 Caracterización química nutricional	44
8.2 Contenido en taninos condensados y fenoles	48
8.3 Degradación <i>in situ</i> de materia seca y nitrógeno	52
9. DISCUSIÓN	58
9.1 Caracterización química nutricional	58
9.2 Contenido en taninos condensados y fenoles	61
9.3 Degradación <i>in situ</i> de materia seca y nitrógeno	64
10. CONCLUSIONES	65
11. LITERATURA CITADA	66

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Cuadro 1. Especies arbóreas y arbustivas de la vegetación de Colima aprovechables por el ganado y otros posibles usos	5
Cuadro 2. Factores antinutricionales de hojas de árboles y arbustos utilizados en la alimentación del ganado	13
Cuadro 3. Composición de la ración	41
Cuadro 4. Caracterización química nutricional de <i>Gliricidia sepium</i>	44
Cuadro 5. ANDEVA de la composición químico nutricional de <i>Gliricidia sepium</i>	45
Cuadro 6. Efecto de interacción en el contenido en fibra cruda (%) de <i>Gliricidia sepium</i> .	45
Cuadro 7. Efecto de interacción para el contenido en cenizas (%) <i>Gliricidia sepium</i>	46
Cuadro 8. Efecto del tiempo de rebrote sobre la concentración química nutricional en <i>Gliricidia sepium</i> .	46
Cuadro 9. Efecto de la altura de poda sobre la concentración química nutricional en <i>Gliricidia sepium</i> .	47
Cuadro 10. ANDEVA sobre el contenido en taninos condensados y fenoles totales en <i>Gliricidia sepium</i> .	48
Cuadro 11. Efecto de interacción de los taninos condensados libres, adheridos y totales (g/kg MS) en <i>Gliricidia sepium</i> .	49
Cuadro 12. Efecto del tiempo de rebrote sobre los fenoles totales, taninos condensados libres, adheridos y totales (g/kg MS) en <i>Gliricidia sepium</i> .	49
Cuadro 13. Efecto de la altura de poda sobre los fenoles totales, taninos condensados libres, adheridos y totales (g/kg MS) en <i>Gliricidia sepium</i> .	50

Cuadro 14. Relación porcentual del contenido en taninos condensados condensados totales y adheridos.	51
Cuadro 15. Degradación <i>in situ</i> de la materia seca de <i>Gliricidia sepium</i> a diferentes alturas de poda y tiempos de rebrote.	52
Cuadro 16. ANDEVA sobre la degradación <i>in situ</i> de la materia seca seca de <i>Gliricidia sepium</i>	53
Cuadro 17. Efecto de la altura de poda sobre las variables de degradación <i>in situ</i> de la materia seca de <i>Gliricidia sepium</i> .	53
Cuadro 18. Degradación <i>in situ</i> del nitrógeno de <i>Gliricidia sepium</i> a diferentes alturas de poda y tiempos de rebrote.	54
Cuadro 19. ANDEVA sobre la degradación <i>in situ</i> del nitrógeno de <i>Gliricidia sepium</i> .	54
Cuadro 20. Efecto de la altura de poda sobre las variables de degradación <i>in situ</i> del nitrógeno de <i>Gliricidia sepium</i> .	55
Cuadro 21. Ecuaciones exponenciales de predicción de la degradación ruminal de la materia seca y del nitrógeno de <i>Gliricidia sepium</i> .	55
Cuadro 22. Coeficiente de correlación entre las variables estudiadas en <i>Gliricidia sepium</i>	57
Figura 1. Distribución de <i>Gliricidia sepium</i> .	8
Figura 2. Estructura del ácido gálico y galotaninos	16
Figura 3. Estructura del ácido elágico y elagitaninos	17
Figura 4. Vía metabólica del ácido shikímico para la formación de de compuestos aromáticos.	19
Figura 5. Biosíntesis de antocianidinas y proantocianidinas	20
Figura 6. Taninos condensados y protección de la proteína en el rumen	23

RESÚMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar en la porción comestible (hojas y tallos ≤ 4 mm de diámetro) de la leguminosa arbórea *Gliricidia sepium*, el efecto del tiempo de rebrote y la altura de poda, sobre la composición químico nutricional, el contenido en taninos condensados, fenoles totales y la degradación *in situ* de la materia seca y nitrógeno. Se realizó un ANDEVA para un diseño completamente al azar en un arreglo factorial 3 x 4, en donde los factores fueron: la altura de poda con tres niveles (40, 60 y 80 cm) y el tiempo de rebrote con cuatro niveles (4, 8, 12 y 16 semanas). El análisis estadístico mostró efecto de interacción de los factores principales para las variables: ceniza, taninos condensados libres (TCL) y taninos condensados totales (TCT) con ($P < 0.01$) y de ($P < 0.05$) para fibra cruda (FC), taninos condensados adheridos a proteína (TCP) y taninos condensados adheridos a fibra (TCF). El tiempo de rebrote presentó significancia ($P < 0.01$) para materia seca (MS), proteína cruda (PC), fibra cruda (FC), fibra detergente neutro (FDN), energía metabolizable (EM), ceniza, Ca, P, TCL, TCF, TCT y fenoles totales (FT), así mismo, para la altura de poda, la significancia ($P < 0.01$) la presentaron: PC, FC, ceniza, TCL y TCT, y de ($P < 0.05$) para FT. En la degradación *in situ* de la materia seca (DISMS), el efecto fue por altura de poda ($P < 0.01$) para la fracción soluble y de ($P < 0.05$) para la fracción degradable; de igual manera, este factor influyó ($P < 0.01$) sobre las mismas variables en la degradación *in situ* del nitrógeno (DISN). Los TCP se encontraron en mayor proporción (46%) respecto a las otras clases de taninos. Se observó correlación positiva entre el tiempo de rebrote con el contenido en TCL, TCT, FC Y FDN, y de forma negativa con FT, TCF, PC y ceniza. La DISMS y la DISN, presentaron correlación positiva con EM. La altura de poda, el tiempo de rebrote y su interacción, modificaron el contenido en nutrimentos, taninos condensados y fenoles en la porción comestible de *Gliricidia sepium*, sin embargo, conservó cualidades como: bajo contenido en taninos condensados (14.6 g/kgMS), alto valor proteico (22.7 %), elevada tasa de degradación de la MS (7.8%/h) y del nitrógeno (8.0%/h); por lo tanto, esta arbórea puede considerarse como una alternativa de alimentación para rumiantes en el trópico seco.

Palabras claves: *Gliricidia sepium*, taninos condensados, fenoles, degradación *in situ*.

1. INTRODUCCIÓN

En los trópicos, los sistemas de alimentación de rumiantes están primordialmente basados en la utilización de pastos, específicamente gramíneas. El pasto disponible, por lo general no es suficiente para satisfacer los requerimientos del animal durante todo el año, lo cual causa períodos de estrés nutricional, y consecuentemente, reducción en su productividad. El uso de concentrados comerciales para la suplementación de los animales durante el período de escasez, en la mayoría de los casos, es una práctica no rentable (FAO, 1991).

Consecuentemente, existe la tendencia hacia la búsqueda de fuentes de proteína a partir de árboles y arbustos forrajeros. Sin embargo, los forrajes provenientes de leguminosas arbóreas y arbustivas, permanecen con un uso limitado en los sistemas de alimentación (FAO, 1991).

La familia Leguminosae incluye por lo menos 18,000 especies y 650 géneros, adaptables a diferentes climas y altitudes, presentando además de elevado nivel de proteína, atributos biológicos y genéticos que las hacen interesantes para considerarlas en la agricultura de diversos países (NAS, 1979; Gutteridge y Shelton, 1994).

Las leguminosas arbóreas forrajeras identificadas sobrepasan a 200, y la mayoría corresponden a especies tropicales y subtropicales, con contenido en minerales y disponibilidad energética generalmente superiores a las gramíneas forrajeras tropicales, sin embargo, la limitante para su empleo es la presencia de sustancias tóxicas y/o antinutricionales (Norton, 1994a).

México presenta regiones de clima y vegetación variados, con abundantes leguminosas arbóreas, arbustivas y herbáceas, de las cuales están registradas en

este país, aproximadamente 1,500 especies, representando un importante recurso alimenticio para el hombre y los animales (Sotelo, 1981).

En el estado de Colima, con características de trópico seco, la arbórea leguminosa *Gliricidia sepium* se encuentra difundida en forma natural, aunque su uso como alternativa forrajera en la ganadería no se ha valorado, y pudiera ser una fuente que atenuara la insuficiencia de forraje en la época de estiaje, o ser utilizado como sustituto proteico en dietas para rumiantes con un manejo adecuado (Palma *et al.*, 1997).

En su valoración, es importante considerar que en hojas, tallos, semillas y otras estructuras de la *Gliricidia sepium*, se presentan compuestos producto de su metabolismo secundario, clasificados como factores antinutricionales (Kumar, 1992; Norton, 1994a). Entre éstos se encuentran los taninos (Ahn *et al.*, 1989; Onwuka, 1992; Valerio-Chaves, 1994; Jackson y Barry, 1996).

Los taninos presentes en leguminosas forrajeras inducen efectos benéficos y adversos en la alimentación de los rumiantes (Reed *et al.*, 1990; Mueller-Harvey y Mc Allan, 1992). El aspecto más importante de los efectos nutricionales y tóxicos de estos metabolitos secundarios es su capacidad para formar complejos con proteínas, (Hagerman y Butler, 1981), así como con otras macromoléculas (Horvath, 1981) y con minerales (Reed, 1995).

En el presente trabajo, se evaluó en la porción comestible de *Gliricidia sepium*, el efecto de la frecuencia y altura de poda, sobre la composición química nutricional, el contenido en taninos condensados y fenoles, así como su relación con la degradación *in situ* de la materia seca y nitrógeno, con la finalidad de optimizar la utilización de este recurso forrajero en la producción de rumiantes en trópico seco.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 GENERALIDADES

Tradicionalmente, las hojas y vainas de leguminosas arbóreas, se utilizan como forraje para rumiantes en Asia, África, la costa del Pacífico de América Central y el trópico árido de América Latina (Skerman, 1977; NAS, 1979; Le Houréou, 1980; Devendra, 1990).

En Nigeria, Onwuka (1992), ha realizado estudios sobre factores antinutricionales en los géneros: *Albizia*, *Cassia*, *Gliricidia* y *Spondias*, entre otros. En tanto que Adejumo (1992), ha investigado el efecto de varios factores sobre el valor nutritivo en *Gliricidia sepium*; así mismo, en la India Rajaram y Janardhanan (1991), señalaron la composición química y potencial nutritivo de algunas especies de *Bahuinia*, en tanto que Rao *et al.*, (1993), indicaron estudios similares en *Gliricidia*. En Indonesia, Lana *et al.*, (1989), expresaron la utilización de *Gliricidia* como forraje para rumiantes, sin efectos adversos en la producción animal.

En Australia, varios autores (Everist, 1986; Ahn *et al.*, 1989; Shelton *et al.*, 1991; Norton, 1994b; Simons y Stewart, 1994), investigaron características nutricionales de leguminosas arbóreas forrajeras, destacando para sus condiciones climáticas y edáficas. los géneros: *Acacia*, *Calliandra*, *Gliricidia* y *Prosopis*.

En Costa Rica, Romero *et al.* (1990), y Valerio-Chaves (1994), evaluaron un grupo de árboles forrajeros, en los cuales están: *Acacia*, *Calliandra*, *Erytrina*, *Gliricidia*, *Mimosa* y otros. Por otra parte, en Cuba, Pedraza y Nery (1992) y Pedraza y Martínez (1993), indicaron el rendimiento y valor nutritivo de *Gliricidia sepium*. Así mismo, Febles *et al.*, (1990; 1993), resaltaron la importancia de estudiar este tipo de vegetación y mencionaron algunos géneros sobresalientes para la ganadería cubana como son: *Calliandra*, *Leucaena*, *Desmodium* y *Bahuinia*, entre otros.

En estudios realizados en Venezuela, Reverón *et al.*, (1986) y Escobar *et al.*, (1996), expresaron el potencial de la *Gliricidia sepium* en la alimentación de animales de varias especies en tanto que en Colombia, Gómez *et al.*, (1990), determinaron el contenido proteico y la producción de biomasa en ese vegetal.

En el Centro de Investigación, de Enseñanza y Extensión de la Ganadería Tropical, ubicado en Veracruz, México, realizaron estudios en varias especies arbóreas, incluyendo *Gliricidia sepium* (CIEEGT 1989/1990; Nochebuena y O'Donovan 1986).

En Colima, Cervantes (1988), indicó el uso de un grupo de árboles nativos para la ganadería de la región; de la misma forma, Pérez-Guerrero (1990), recopiló información más completa, al considerar la parte usada por el ganado y otros empleos posibles (Cuadro 1). Por otra parte, Palma (1993), Palma *et al.*, (1997; 1999), iniciaron el estudio de leguminosas arbóreas de uso potencial para la ganadería de este estado, como *Leucaena leucocephala*, *Calliandra calothyrsus* y *Gliricidia sepium*.

Así mismo, en Colima Romero *et al.*, (2000), evaluaron la influencia del pastoreo con ovinos en la concentración de fenoles totales y taninos condensados en *Gliricidia sepium*

Cuadro 1. Especies arbóreas y arbustivas de la vegetación de Colima aprovechables por el ganado y otros posibles usos.

ESPECIES	NOMBRE COMUN	FAMILIA	PARTES USADAS	OTROS USOS
<i>Acacia acatlensis</i>	Espino blanco	Legumináceas	Vainas y hojas	Leña
<i>Acacia farnesiana</i>	Huizache	Legumináceas	Vainas y hojas	Leña
<i>Acacia cochliata</i> *	Huizache, cenchero	Legumináceas	Vainas y hojas	
<i>Acacia pennatula</i>	Tepane, espino monte	Legumináceas	Vainas y hojas	Postería
<i>Acacia lindsu</i> *	Huizcolote	Legumináceas	Vainas y hojas	
<i>Erythrina sp</i>	Colorin	Legumináceas	Hojas	Cerco vivo
<i>Enterolobim ciclocarpum</i>	Parota	Legumináceas	Vainas	Comestible, madera.
<i>Glicicidia sepium</i>	Cacanahual, cocouite	Legumináceas	Hojas	Madera. Cerco vivo
<i>Leucaena leucocephala</i>	Huaje	Legumináceas	Follaje	Medicinal ornato
<i>Leucaena esculenta</i> *	Huaje rojo	Legumináceas	Follaje	
<i>Lysiloma acapulcensis</i>	Tepeguaje	Legumináceas	Vaina	Leña
<i>Lysiloma microphila</i> *	Tepemezquite	Legumináceas	Vaina	
<i>Lysiloma tergemina</i>	Tapadera	Legumináceas	Vaina	
<i>Lysiloma divaricata</i>	Tepemezquite	Legumináceas	Vaina	
<i>Pithecolobium dulce</i>	Guamuchil	Legumináceas	Fruto	Comestible
No identificada	Guayabillo	Legumináceas	Fruto y hojas	
No identificada	Guayabillo negro	Legumináceas	Vaina	
No identificada	Palo fierro	Legumináceas	Vaina	Postería
<i>Brosimun alicastrum</i>	Mojo, capomo, ramba	Moráceas	Hojas y fruto	Sust.del café, madera
<i>Ficus petiolaris</i>	Tescalama	Moráceas	Fruto	Cajas empaque
<i>Ficus sp</i>	Higuera	Moráceas	Fruto	Cajas empaque
<i>Ficus sp</i>	Salate	Moráceas	Fruto y hojas	Cajas empaque
<i>Crecentia alata</i>	Cuastecomate	Bignonáceas	Fruto	Licor, medicinal
<i>Guacuma ulmifolia</i>	Guacima	Esterculáceas	Fruto	Medicinal
<i>Hura polyandra</i>	Habillo	Euforbáceas	Hojas	
<i>Mastichodendrom capiri</i>	capri, capire	Sapotáceas	Fruto	Comestible
<i>Psidium sartorian</i>	Arrayan, guayabillo	Mirtáceas	Fruto	Dulces
<i>Pseudobombax ellipticum</i>	Clavellina	Bombáceas	Flor	

*Cervantes (1988); Pérez Guerrero(1990)

2.2 IMPORTANCIA DE LAS LEGUMINOSAS ARBÓREAS

Las leguminosas arbóreas son importantes por su diversidad de usos (árboles multipropósitos), tales como: sombra y microclima para otras plantas, animales y suelos, como cercos vivos, en la producción de leña y carbón, en el control de erosión del suelo, son fuentes de frutas para consumo humano y mecanismo transportador de agua de las capas profundas del suelo hacia la superficie, incrementando de esta forma, la humedad de la atmósfera (Gutteridge y Shelton, 1994; Simons y Stewart, 1994).

Además, las leguminosas son interesantes en los sistemas silvopastoriles, pues aumentan la producción de forraje por unidad de superficie, sirven como abono verde, aportan madera para la construcción, son proveedoras de medicina, colorantes y taninos para curtiduría y además, se utilizan como forraje para los animales, proporcionándoles proteínas, carbohidratos, vitaminas y minerales (Gutteridge y Shelton, 1994; Simons y Stewart, 1994).

Por sus características agronómicas y valor nutritivo, éstos vegetales representan una fuente importante de alimento para animales, sin embargo, comparadas con leguminosas herbáceas, han recibido poca atención como fuente permanente de forraje (NAS, 1979; Norton, 1994a).

Su empleo como forraje es primordialmente en la alimentación de rumiantes (Reveron *et al.*, 1986; Norton, 1994b), y con menor frecuencia, en raciones de cerdos (Reveron *et al.*, 1986) y aves (Montilla *et al.*, 1973;1974).

Las especies frecuentemente utilizadas son de los géneros; *Acacia*, *Calliandra*, *Desmanthus*, *Desmodium*, *Gliricidia*, *Leucaena*, *Prosopis* y *Sesbania* (Brewbaker, 1986).

La *Gliricidia sepium*, se considera como la segunda leguminosa arbórea multipropósitos más importante en el trópico húmedo, después de la *Leucaena leucocephala*. Entre las razones de su popularidad están: su resistencia a la defoliación por la *Heteropsylla cubana* que es devastadora para *Leucaena*, la facilidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales, la rapidez con que se desarrolla y su valor nutritivo, entre otros factores (Reveron *et al.*, 1986; Simons y Stewart, 1994).

2.3 CARACTERÍSTICAS DE *Gliricidia sepium*

2.3.1 CATEGORÍA SISTEMÁTICA Y NOMBRES

Orden: Fabales

Suborden: Leguminosineae

Familia: Leguminosae.

Subfamilia: Papilionoideae.

Tribu: Galegeae

Subtribu: Robinineae

Género: *Gliricidia*

Especie: *sepium* (Takhtajan, 1987).

NOMBRE CIENTÍFICO: *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp. (NFTA, 1989).

NOMBRES COMUNES:

La *Gliricidia sepium* se conoce con varios nombres comunes como: *madre del cacao* y *mata-ratón*, que le fueron asignados por los indígenas de América Central desde la época prehispánica. El primero corresponde a su uso como árbol de sombra en cultivos de cacao y café, en tanto que el segundo, a los efectos tóxicos en roedores de sus semillas, hojas raíces y corteza (Simons y Stewart, 1994; Smith y van Houtert, 1987).

Además, en México tiene varios nombres regionales como: *cacanhual*, *cocouite*, *cacahuananche*, *sayab*, *yaité*, *chanté*, *flor de San José* y *palo de corral*, entre otros (Martínez 1979; Pérez- Guerrero, 1990).

2.3.2 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN.

La *Gliricidia sepium* es originaria de México y América Central, en regiones de trópico seco localizadas en la costa del Océano Pacífico. Los límites de su distribución natural en América no están definidos con exactitud encontrándose en México, Guatemala, Belice, El Salvador, Costa Rica, Panamá, Colombia y Venezuela [NFTA, 1989 (Figura 1)].

En México se localiza en los estados de: Sinaloa, Michoacán, Colima, Guerrero, Oaxaca, Chiapas, Veracruz y Yucatán (Martínez, 1979). En Jalisco, en La Huerta, región de Chamela, McVaugh y Magallanes (citados por McVaugh, 1987), recolectaron e identificaron esta arbórea.

Así mismo, se ha naturalizado en Australia, Filipinas, Indonesia, Malasia, Tailandia y algunos países de África Occidental (Simons y Stewart, 1994).



Figura 1. Distribución de *Gliricidia sepium* (NFTA, 1989)

2.3.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

La *Gliricidia sepium* es un árbol que mide de 10 a 12 metros de altura; su corteza es lisa con coloración que varía de blanco grisáceo a café rojizo, con manchas blancas lenticuladas; las hojas son alternas, pinadas e impares, y miden aproximadamente 30 cm de longitud, en tanto que los folíolos, en número de 5 a 20, son ovales o elípticos con 2 a 7 cm de longitud y 1 a 3 cm de ancho; presenta racimos con 20 a 40 flores de color rosa pálido a lila, y amarillo claro en la base de los pétalos, los cuales miden de 15 a 20 mm de longitud y 4 a 7 mm de ancho (Harborne, 1989; Simons y Stewart, 1994).

Sus vainas son verdes, aunque su coloración puede variar a rojizo o café amarillento dependiendo de su maduración; miden de 10 a 18 cm de largo y 2 cm de ancho; las semillas, en número de 4 a 10 por vaina, son redondeadas y de color café amarillento a café oscuro (Harborne, 1989; Simons y Stewart, 1994).

2.3.4 ECOLOGÍA

El árbol *Gliricidia sepium* se desarrolla fácilmente y con rapidez en trópico seco, a temperaturas de 22 a 30°C, alcanzando una altura de 3 m en 8 meses, crece en altitudes menores de 500 msnm, pero se han encontrado rodales naturales a 1,400 msnm. En el área de distribución natural se le encuentra en zonas con precipitaciones pluviales anuales de 1,500 a 2,500 mm; crece en diversas clases de suelos, desde secos a húmedos, incluyendo arenosos, calcáreos y ácidos (pH 4.5-6.2); las semillas frescas germinan, sin tratamiento previo (NAS, 1984; Reveron *et al.*, 1986; Simons y Stewart, 1994).

La regeneración natural es un método simple de obtener especímenes con relativa facilidad de establecimiento y prendimiento, a partir de estacas de más de 2 metros de longitud y diámetro de 4 a 12 cm en la base, provenientes de ramas de 18 a 24 meses de edad (CATIE, 1986).

2.3.5 USOS

La *Gliricidia sepium* es una arbórea multipropósitos, que se utiliza principalmente como: fuente de forraje y leña, sombra para plantas y animales, soporte para siembras, estabilización del suelo, cerco vivo, medicamento contra eczema, fuente de madera para postería y artesanías, y además, para evitar la erosión del suelo (Simons y Stewart, 1994).

Como planta forrajera se ha utilizado principalmente en la alimentación de rumiantes sin mostrar efectos negativos en la producción (Perdock *et al.*, 1982; Ash, 1990; Rao *et al.*, 1993; Tjandratmadja *et al.*, 1993; Norton 1994a). Con menor frecuencia se ha empleado en cerdos (Reveron *et al.*, 1986), y aves (Montilla *et al.*, 1973; 1974; Reveron *et al.*, 1986; Osei *et al.*, 1990).

Los animales ingieren la *Gliricidia sepium* como follaje tierno, solo o como suplemento en niveles de 20 a 40% (CATIE, 1986; Simons y Stewart, 1994). Además, se ha ensilado para administrarlo a rumiantes durante el estiaje (CATIE 1986; Tjandratmadja *et al.*, 1993).

2.3.6 PRODUCCIÓN DE BIOMASA

El árbol *Gliricidia sepium* tolera podas continuas, recuperándose con facilidad. La poda y manejo adecuados incrementan su valor como forraje en época de estiaje. La estimación de la producción de biomasa foliar se ha realizado bajo diversas condiciones edáficas y climáticas, así como en diferentes sistemas de manejo con variables como: método de establecimiento (semillas o estacas de varios tamaños), distancia entre plantas, así como la frecuencia y altura de poda, entre otras (Simons y Stewart, 1994).

La frecuencia de corte óptima para la producción de hojas depende de varios factores, entre éstos el clima, pudiendo hacerse podas más frecuentes en época de lluvia que de estiaje. Para la *Gliricidia sepium* que se desarrolla en trópico húmedo y

que se utiliza únicamente como forraje, el intervalo de corte recomendado es de 6 a 12 semanas (Simons y Stewart, 1994).

Los estudios realizados por Wong y Sharudin (1986) y Srisikandarajah (1987), sobre la producción de biomasa de *Gliricidia sepium*, bajo diferentes condiciones, indican resultados como MS con rangos de 2 a 20 t /ha/año.

Palma *et al.*, (1997), en un estudio practicado en *Gliricidia sepium* en el cual practicaron 5 podas entre los meses de mayo a diciembre, obtuvieron una producción acumulada de materia fresca (MF) de 3.18 kg/árbol/año y 3.87 kg de MF/árbol/año, haciendo cortes a 20 y 40 cm de altura, respectivamente.

2.4 VALOR NUTRITIVO DE *Gliricidia sepium*

Palma *et al.* (1999), al analizar la *Gliricidia sepium* encontraron en la porción comestible los siguientes valores: PC 24%, FC 24%, EM 2.24 Mcal/kg y DMO 64%; en tanto que Smith y Van Houtert (1987), recopilando información de varios autores, indicaron la concentración promedio de los siguientes nutrimentos: PC 23%, FC 20.7%, EE 3.1% y ELN 42.8%. Por sus características nutricionales se utiliza como suplemento en niveles de 20 a 40% de la dieta (Simons y Stewart, 1994), o como fuente única de proteína para rumiantes (Carew, 1983).

Así mismo, Sentheshanmuganathan y Durand (1969), expresaron que la proteína aislada de hojas de esta arbórea contiene todos los aminoácidos esenciales, excepto los que llevan azufre, en cantidades similares a las presentes en leche, soya y semillas de sésamo.

Sin embargo, su empleo en la alimentación de los animales, puede ser limitada por la presencia de factores antinutricionales y tóxicos en sus hojas como: taninos condensados (Anh *et al.*, 1989; Onwuka, 1992), pinitol (Calle *et al.*, 1987),

saponinas (Onwuka, 1992), coumarinas y ácido meliolítico (Griffiths, 1962), así como glucósidos cianogénicos y nitratos (Manidool, 1985). Por otra parte, Sotelo *et al.*, (1986), identificaron en sus semillas, canavanina y una toxina termoestable.

2.5 FACTORES ANTINUTRICIONALES.

Los factores antinutricionales son definidos por Kumar (1992), como productos del metabolismo secundario de los vegetales alimenticios, que por diferentes mecanismos, pueden tener efectos adversos en la nutrición.

Entre los factores antinutricionales identificados en varias especies vegetales se incluyen metabolitos secundarios como: 8,000 polifenoles, 270 aminoácidos no proteicos, 32 cianogénos, 10,000 alcaloides y varias saponinas (Kumar, 1992).

Aparentemente su función en las plantas es la protección de sus estructuras y elementos reproductivos contra la depredación por herbívoros, el ataque de hongos e insectos y otros patógenos (Harborne, 1989; Borel, 1990).

Su concentración varía en diversas estructuras del vegetal, pero además influyen: la edad, la etapa fenológica, las enfermedades, el genotipo, factores edáficos y el microclima (Makkar *et al.*, 1991; Pandey y Makkar, 1991; Waterman y Mole, 1994). Asimismo, la intensidad de la irradiación solar y ultravioleta inducen su modificación cuantitativa (Mole *et al.*, 1988).

Algunos rumiantes han desarrollado mecanismos de desintoxicación para estos compuestos, a partir de la coevolución que pudo haber existido entre animales y plantas con alta concentración de factores antinutricionales (Minson y Hegarty, 1984).

En el cuadro 2, se indican algunos factores antinutricionales identificados en las hojas de algunos árboles y arbustos, sobresaliendo: mimosina, glucósidos cianogénicos, taninos y oxalatos, entre otros (Kumar, 1992).

Cuadro 2. Factores antinutricionales de hojas de árboles y arbustos utilizados para la alimentación del ganado.

Sustancias Antinutricionales	Especies
1.- Aminoácidos no proteico Mimosina Indospecina	<i>Leucaena leucocephala</i> <i>Indigofera spicata</i>
2.- Glucósidos (A) Cianógenos (B) Saponinas	<i>Acacia giraffae</i> <i>A. cunninghamii</i> <i>A. sieberiana</i> <i>Bambusa bambos</i> <i>Barteria fistulosa</i> <i>Manihot esculenta</i> <i>Albizia stipulata</i> <i>Bassia latifolia</i> <i>Sesbania sesban</i>
3.- Fitoheماغlutininas Ricina Robina	<i>Bauhinia purpurea</i> <i>Ricinus communis</i> <i>Robina pseudoacacia</i>
4.- Compuestos polifenólicos (A) Taninos (B) Lignina	Todas las plantas vasculares Todas las plantas vasculares
5.- Alcaloides N-metil-B-fhen Etilamina Sesbania	<i>Acacia berlandieri</i> <i>Sesbania vesicaria</i> <i>S. drummondii</i> <i>S. punicea</i>
6.- Triterpenos Azadirachtina Limonina	<i>Azadirachta indica</i> <i>Azadirachta indica</i>
7.- Oxalatos	<i>Acacia aneura</i>

Kumar (1992).

2.6 TANINOS

2.6.1 DEFINICIÓN

El término taninos se refería originalmente a sustancias con propiedades curtientes (Swain, 1979). Posteriormente Haslam (1989), los definió como polímeros fenólicos solubles en agua que precipitan proteínas. Sin embargo, algunos compuestos fenólicos solubles con estructura y propiedades químicas análogas a los taninos, no precipitan proteínas; por otra parte, compuestos fenólicos con alto peso molecular y estructura similar, no se disuelven en agua (Bate-Smith 1973; Stafford y Cheng, 1980).

Así mismo, Horvarth (1981), define a los taninos como cualquier compuesto fenólico de elevado peso molecular que contiene varios hidroxilos y otros grupos compatibles (por ejemplo, carboxilos) con los cuales forman complejos firmes con proteínas y otras macromoléculas, bajo condiciones ambientales particulares. Reed (1995), añade a esta definición, la capacidad de estos compuestos de formar complejos con minerales.

2.6.2 LOCALIZACIÓN

Los taninos se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, y se localizan en varias estructuras de las plantas: en las yemas como protectores contra el frío, en las hojas para evitar la depredación, en las raíces para impedir el desarrollo de patógenos, en las semillas tienen efecto en la dormancia y como bactericida, y en los tallos en la regulación de su crecimiento (Haslam, 1989).

2.6.3 CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA.

Los metabolitos secundarios de los vegetales se clasifican en tres grupos principales: compuestos nitrogenados, terpenoides y fenólicos; en éste último se

incluye a los taninos, los cuales con base en su estructura química, Haslam (1989) los clasifica como: taninos hidrolizables (HT) y taninos condensados (CT) o proantocianidinas (PA).

Los HT son polímeros de ácido gálico o ácido elárgico, esterificados con glucosa y denominados como galotaninos y elagitaninos, respectivamente.(Figuras 2 y 3). El término "taninos hidrolizables" proviene de la facilidad con que se hidrolizan por efecto de ácidos, bases o esterasas, liberando glucosa y el ácido fenólico correspondiente (Haslam, 1989).

Los CT son más abundantes y menos solubles en agua que los HT; su estructura química corresponde a polímeros de flavan-3-ol, con enlaces firmes entre carbonos, por lo tanto, no susceptibles a hidrólisis. Su designación como "proantocianidinas" resulta de su transformación en antocianidinas de color rojo, al reaccionar con alcohol en medio ácido y calor (Haslam. 1989). Las antocianidinas más comunes son: cianidina y delfidina, provenientes de las proantocianidinas: procianidina y prodelfidina, respectivamente (Van Soest, 1994).

Las antocianidinas son pigmentos que colorean de rosa, escarlata, rojo, malva y azul a flores, hojas, frutos, jugos de frutos y vinos, además en éstos últimos originan astringencia (Horvath, 1981; Haslam, 1989).

La característica principal de los taninos, es su capacidad para la formación de complejos con proteínas; su estabilidad depende tanto de características de los taninos, como de las proteínas (peso molecular, estructura terciaria, punto isoeléctrico y afinidad entre los sitios de unión, entre otras). Los grupos hidroxilo de los taninos establecen enlaces por puente de hidrógeno (Haslam, 1989), en tanto que los anillos aromáticos forman enlaces hidrofóbicos con las proteínas (Oh *et al.*, 1980).

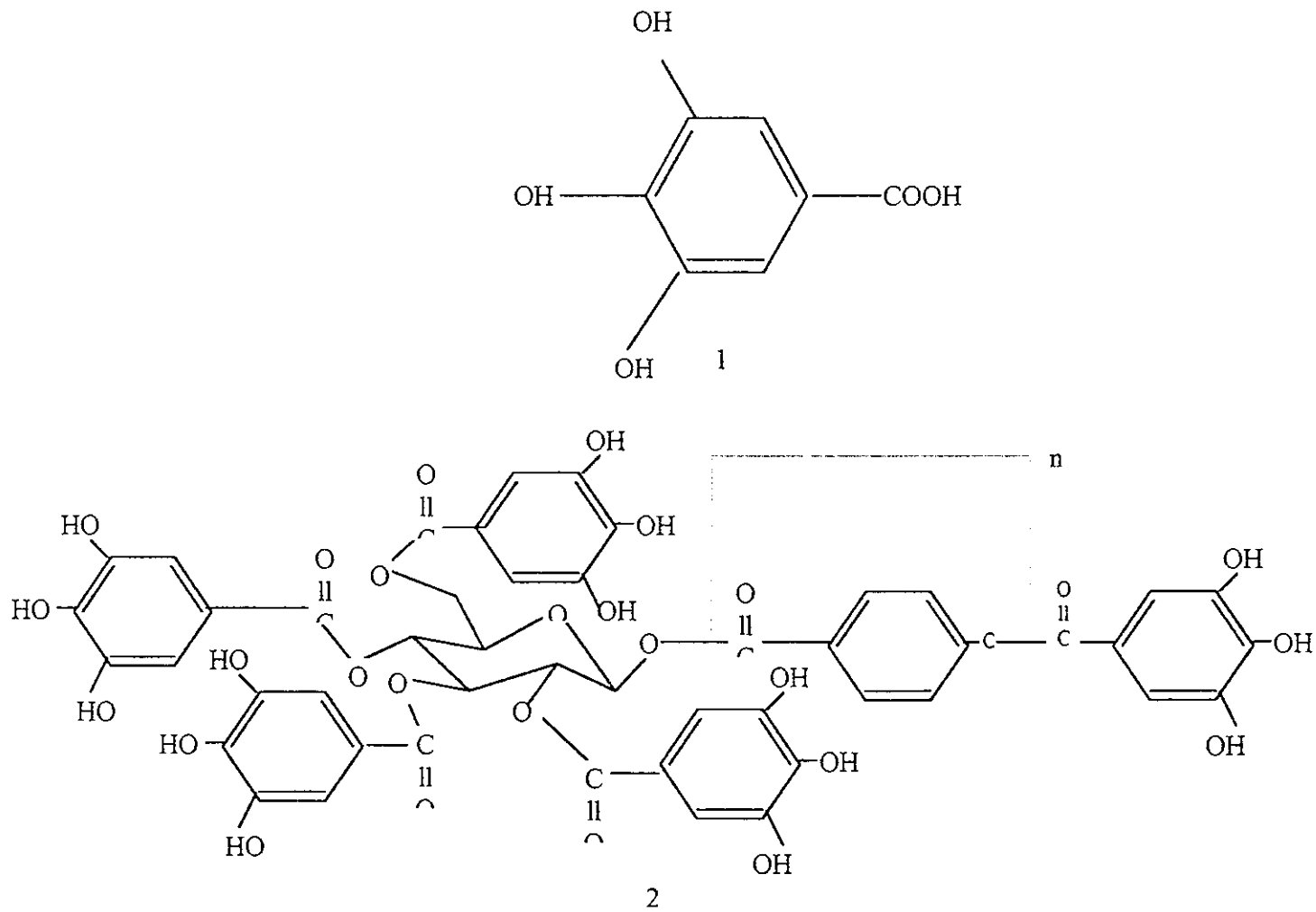


Figura 2. Estructura del ácido gálico (1) y de galotaninos (2) Van Soest, 1994

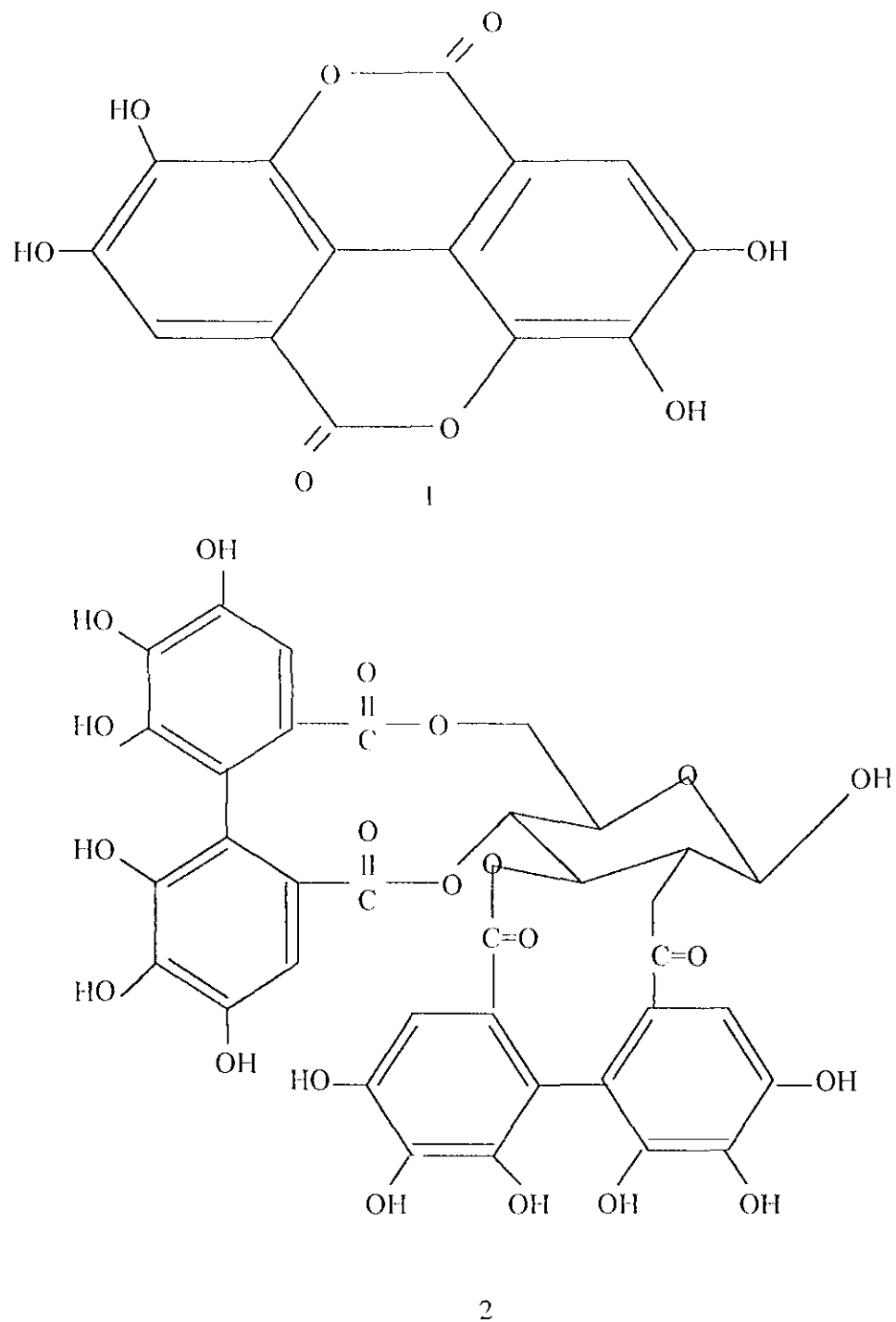


Figura 3. Estructura del ácido elágico (1) y elagitaninos (2) (Van Soest, 1994).

Además, los taninos forman enlaces covalentes con las proteínas, como resultado de reacciones de polimerización oxidativas inducidas por: calentamiento, luz ultravioleta y enzimas polifenoloxidasas y peroxidasas (Stafford, 1988; Reed, 1995).

Así mismo, los taninos pueden formar complejos con polisacáridos como almidón y celulosa, estabilizados por enlaces por puentes de hidrógeno e hidrofóbicos (Oh *et al.*, 1980; Mueller-Harvey *et al.*, 1988).

2.6.4 BIOSÍNTESIS

Evidencias histológicas indican que tanto las proantocianidinas como las antocianidinas son sintetizadas en el lumen del retículo endoplasmico y transportadas para su almacén a la vacuola central (Parham y Kaustinen, 1977).

En las figuras 4 y 5, se representa la síntesis de taninos que se inicia a partir del ácido shikimico, continuando por la ruta del ácido gálico, precursor de taninos hidrolizables, o por la ruta del ácido cinámico, a partir del cual, se forman leucocianidinas (flavan-3,4, diol; flavan- 4,ol y flavan -3, ol), precursores biosintéticos de taninos condensados (Heller y Forkman, 1988; Van Soest, 1994).

La vía metabólica del ácido shikimico, además de ser la ruta de síntesis de taninos, es la vía de formación de otros compuestos como isoflavonas, coumarinas, ligninas y aminoácidos aromáticos como triptófano, fenilalanina y tirosina (Van Soest, 1994).

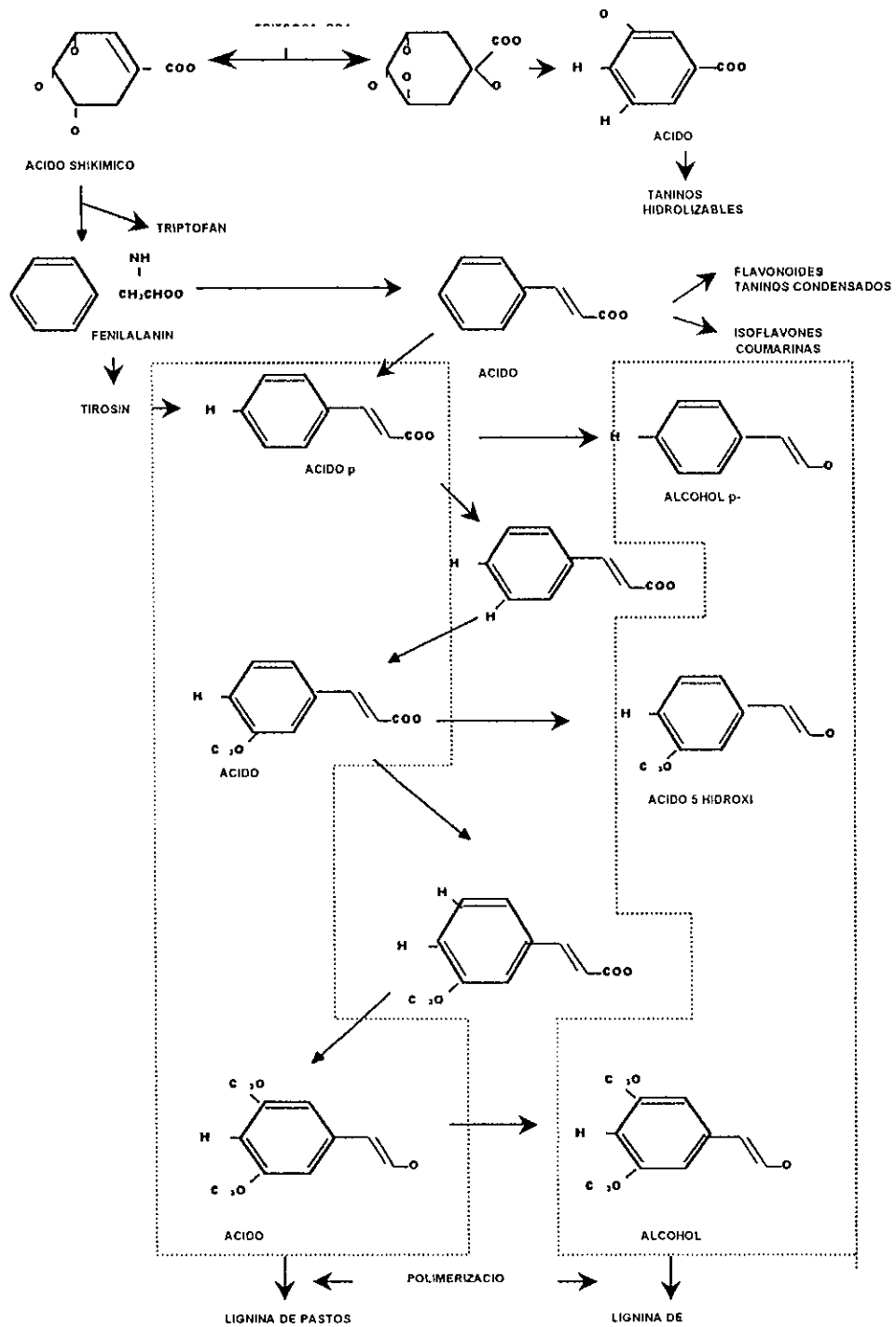


Figura 4. Vía metabólica del ácido shikimico para la formación de compuestos aromáticos (Van Soest, 1994)

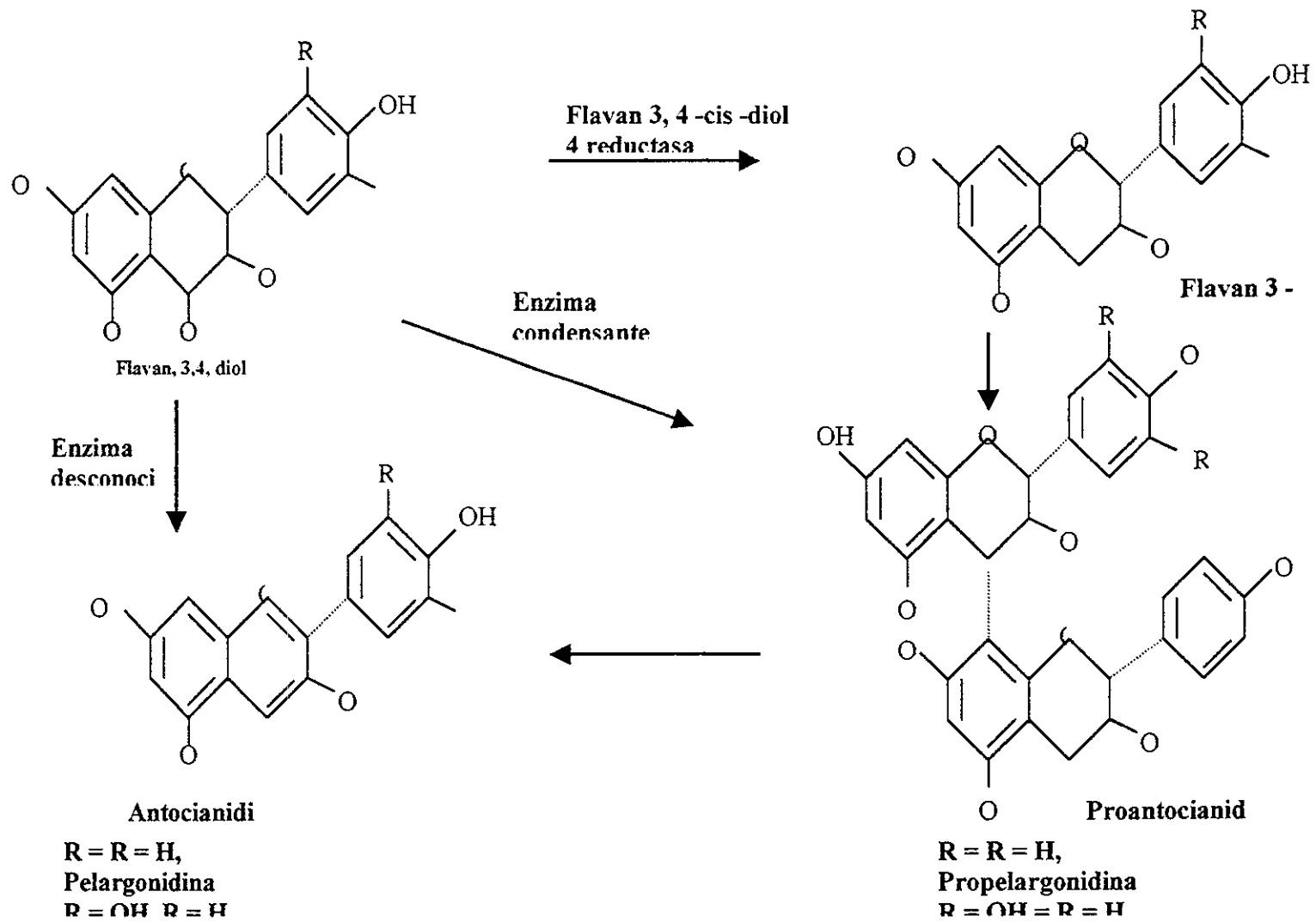


Figura 5. Biosíntesis de antocianidinas y proantocianidinas (Heller y Forkman, 1988).

2.6.5 EFECTOS SOBRE LA NUTRICIÓN DE RUMIANTES.

Los taninos presentes en leguminosas forrajeras producen efectos benéficos y adversos en la alimentación de los rumiantes (Reed *et al.*, 1990; Mueller-Harvey y Mc Allan, 1992).

El primer efecto negativo de la ingestión de vegetales que contienen taninos es la reducción del consumo, como consecuencia de la astringencia, sensación causada por la formación de complejos entre taninos y glicoproteínas de la saliva. La astringencia incrementa la producción de saliva y disminuye la gustosidad (Reed, 1995).

Por otro lado, la capacidad de los taninos de formar complejos firmes con proteínas, es el aspecto más importante de sus efectos nutricionales y tóxicos (Hagerman y Butler, 1981).

La presencia de taninos en concentraciones de 5 a 10% MS en forrajes para rumiantes, influye en detrimento de su alimentación (Barry, 1989; Kumar y Vaithyanathan, 1990). En estos niveles, además de disminuir la gustosidad y el consumo, reducen la digestibilidad de proteínas y carbohidratos, así como la productividad animal (Barry y Duncan, 1984; Barry, 1985; Reed *et al.*, 1990). Por otra parte, Kumar y Vaithyanathan (1990), mencionaron como el efecto adicional, la baja disponibilidad de hierro y azufre.

Las concentraciones de 1 a 3% MS de taninos en los alimentos, pueden inducir respuestas positivas sobre la nutrición (Kumar, 1992). Al respecto, Eagan y Ulyatt (1980), Barry y Manley (1984), Waghorn *et al.* (1987) y Woodward (1988), mencionaron el incremento de la eficiencia de utilización de proteínas al disminuir la tasa de degradación y desaminación en el rumen, propiciando de esta manera, el aumento de proteína de sobrepaso e incremento del flujo ruminal de aminoácidos esenciales. Además, disminuyen la concentración de nitrógeno ureico plasmático,

amoníaco ruminal y nitrógeno urinario. Así mismo, incrementan la producción de saliva, aumentando el reciclaje de nitrógeno en el rumen, reducen los problemas asociados a una excesiva proteólisis o desaminación en el rumen y controlan el timpanismo.

Jones y Mangan (1977) y Mangan (1988), en este mismo contexto, indicaron que concentraciones bajas de taninos incrementan la cantidad de aminoácidos esenciales que se absorben en el intestino delgado, debido a que los taninos condensados al unirse a proteínas forman un complejo estable en el rumen (pH 5.5-7.0), que se disocia en el abomaso (pH 2.5-3.5), liberando a las proteínas, las cuales pasan posteriormente al intestino delgado para su digestión y absorción (Figura 6).

La concentración óptima de taninos en la dieta no está determinada, pero probablemente dependa de factores como: nivel de PC en el forraje, energía disponible para la síntesis de proteína microbiana y la depresión del consumo voluntario, entre otros (Giner-Chávez.,1996).

2.6.6 TOXICIDAD EN MICROORGANISMOS

Los taninos producen efectos tóxicos sobre diversos microorganismos ruminales como: *Streptococcus bovis*, *Butyrivibrio fibrosolvers*, *Prevotella ruminicola* y *Ruminobacter amylophilis*, entre otros (Jones *et al.*, 1994). La toxicidad es inducida por inhibición de enzimas microbianas extracelulares, bloqueo de sustancias requeridas por los microorganismos para su desarrollo, o efecto directo sobre el metabolismo microbiano, como supresión de la fosforilación oxidativa; además, causan efecto negativo sobre la utilización de iones metálicos como el hierro (Scalbert, 1991).

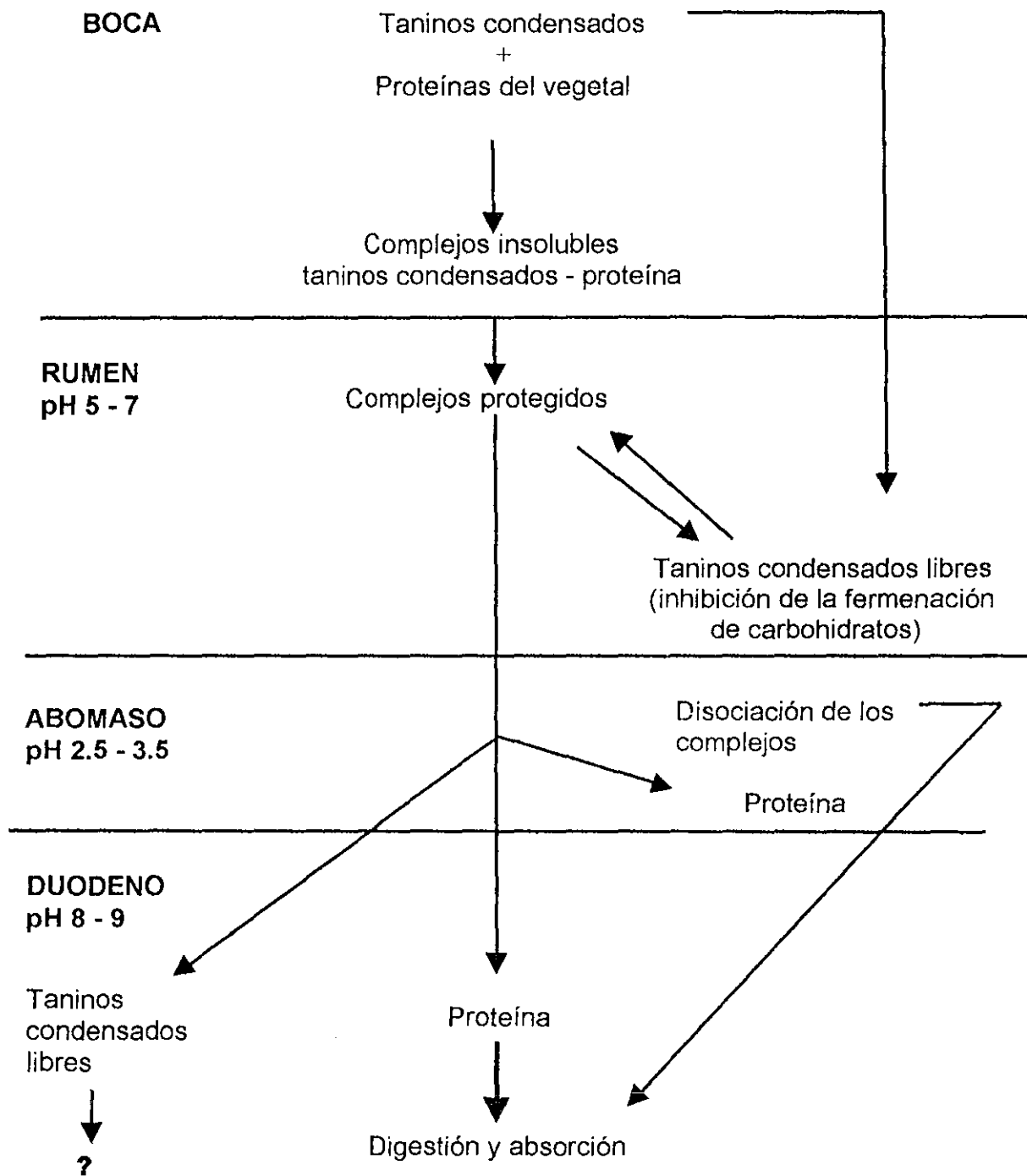


Figura 6. Taninos condensados y protección de la proteína en el rumen (Mangan, 1988).

síntesis de enzimas resistentes a taninos y biodegradación de los mismos (Scalbert, 1991).

2.6.7 TOXICIDAD EN RUMIANTES

Los taninos condensados predominan sobre los hidrolizables en las leguminosas forrajeras; no son considerados como tóxicos porque no se absorben, pero se les asocia con lesiones de mucosa gástrica. En altas concentraciones disminuyen la absorción de nutrimentos, siendo más susceptibles los aminoácidos esenciales, metionina y lisina. Consecuentemente, la deficiencia en metionina puede incrementar la toxicidad de otros componentes de las plantas como glucósidos cianogénicos, pues éste aminoácido está involucrado en la detoxificación de cianina, por la vía de metilación del tiocianato (Reed, 1995).

Los taninos hidrolizables son potencialmente tóxicos para los rumiantes, pues su degradación por microorganismos ruminales produce pirogalol, que es una sustancia hepatotóxica y nefrotóxica. La intoxicación aguda ocurre con la ingestión de vegetales que contengan alrededor de 20% de ésta clase de taninos, produciendo gastroenteritis hemorrágica, necrosis hepática y daño renal con necrosis de los túbulos proximales (Dollahite *et al.*, 1962; Holliman, 1985; Filippich *et al.*, 1991).

Un mecanismo de defensa contra los efectos negativos de los taninos, es la secreción en saliva de glicoproteínas ricas en prolina (más de 45%), con afinidad por compuestos fenólicos como los taninos (Robbins *et al.*, 1987). La unión inmediata de esas proteínas salivales con los taninos al ingresar al tracto digestivo, disminuye su capacidad de inhibir enzimas digestivas del rumen, así como otros efectos fisiológicos (Mole *et al.*, 1990). Sin embargo, la adaptación microbiana es el mecanismo primario por el cual los rumiantes pueden tolerar concentraciones altas de taninos en la dieta (Reed, 1995).

mecanismo primario por el cual los rumiantes pueden tolerar concentraciones altas de taninos en la dieta (Reed, 1995).

2.6.8 TOXICIDAD EN MONOGÁSTRICOS

En monogástricos, los taninos pueden inducir crecimiento deficiente, disminución en la utilización de proteínas, daño en mucosas del tracto gastrointestinal, alteración en la excreción de algunos cationes, e incremento en la excreción de proteínas y aminoácidos esenciales. Concentraciones de estos compuestos superiores al 5% MS en su ración, son mortales (Buttler, 1992; Mueller-Harvey y McAllan, 1992).

En aves, concentraciones de 1 y 2% de taninos en su alimento, originan deficiencia en crecimiento y en producción de huevo (Mueller-Harvey y McAllan, 1992); en tanto que alimentos conteniendo de 3 a 7% de taninos, les causa la muerte (Treviño *et al.*, 1992; Ortiz *et al.*, 1993). Efectos similares fueron observados en cerdos por van Leeuwen *et al.*, (1995), y en ratas por Yu *et al.*, (1995).

La inclusión de concentraciones altas de proteínas o de aminoácidos en raciones para monogástricos, disminuye los efectos antinutricionales de los taninos (Mueller-Harvey y McAllan, 1992).

2.6.9 MÉTODOS PARA INACTIVAR TANINOS O CONTRARRESTAR SUS EFECTOS

Kumar y Sing (1984) y Jones (1994), describieron métodos tanto físicos como químicos y biológicos para inactivar taninos o contrarrestar sus efectos. Entre éstos mencionaron: tratamiento con agua y calor, con álcalis o con formalina; uso de adsorbentes como polivinilpirrolidona y polietilenglicol; suplementación con urea o con minerales; reducción de la cantidad de leguminosa incluida en la ración;

cruzamiento de plantas de la misma especie que produzcan diferentes concentraciones de taninos, así como el empleo de microorganismos ruminales con capacidad para biodegradar los taninos.

2.6.10 MÉTODOS ANALÍTICOS

La cuantificación de taninos condensados en vegetales, es difícil por su complejidad y reactividad con varios compuestos. A pH neutro, los TC de las plantas forrajeras forman complejos estables con las proteínas (TCP) y fibra (TCF), dificultando su extracción (McLeord, 1974; Terrill *et al.*, 1990). Varios procedimientos de análisis específicos para proantocianidinas, en realidad únicamente determinan el contenido en taninos libres (extractables).

Además, los métodos de secado y molienda, así como los solventes utilizados, influyen sobre su extracción y valoración (Goldstein y Swain, 1963; Terrill *et al.*, 1990).

Los principales métodos desarrollados para la cuantificación de taninos son: colorimétricos, precipitación de proteínas y gravimétricos (Waterman y Mole, 1994). Además, Feuchl *et al.* (1992), describió la separación y determinación cuantitativa de catequinas y proantocianidinas por medio de HPLC–CRD (Chemical Reaction Detection) con DACA (4 dimetilaminocinnamaldehído).

Los métodos colorimétricos se emplean con mayor frecuencia, y entre éstos los desarrollados por Folin-Dennis y Folin-Ciocalteu (Folin y Ciocalteu, 1927), la reacción con vainillina-HCl (Broadhurst y Jones, 1978) y la reacción con butanol-HCl (Bate – Smith, 1973, 1975).

La reacción de Folin se basa en la reducción de ácido fosfomolibdico por fenoles solubles totales, que incluyen moléculas fenólicas que no son taninos,

además se presenta interferencia por diversos componentes del vegetal (Singleton y Rossi, 1965; Andersen y Todd, 1968).

El método en que se utiliza vainillina-HCl es específico para flavan-3-ols y proantocianidinas. Su fundamento es la reacción de condensación de un aldehído fenólico (vainillina) con el floroglucinol de los flavan-3-ols y proantocianidinas en metanol y medio ácido (Broadhurst y Jones, 1978).

En el método que emplea butanol-HCl (Bate-Smith, 1973, 1975), se efectúa una depolimerización de taninos condensados produciendo antocianidina de color rojo, reacción específica para proantocianidinas.

En general, la precisión de los métodos colorimétricos está limitada por el uso de estándares que al reaccionar, producen cromofóros con coeficientes de extinción diferentes a los de los componentes del vegetal (Reed, 1995).

La difusión radial es un método de precipitación de proteínas que depende de la formación de complejos entre taninos y albúmina sérica bovina en gel de agar. El diámetro del círculo de proteína precipitada es proporcional al contenido de taninos en el extracto. Utiliza como estándar el ácido tánico y los resultados se expresan como equivalentes de ácido tánico (Hagerman, 1987).

El método gravimétrico descrito por Reed *et al.* (1985), se basa en la capacidad del iterbio trivalente para precipitar polifenoles de extractos vegetales. No requiere la utilización de estándares y el precipitado puede disolverse con ácido oxálico obteniéndose fenoles en solución y oxalato de iterbio insoluble. La solución puede emplearse para análisis colorimétrico, cromatografía y estudios de inhibición *in vivo* e *in vitro*.

La desventaja de este método es que no todos los polifenoles son precipitados, por lo que no se logra precisión en plantas con bajo contenido en polifenoles (Lowry y Sumpter, 1990).

En la técnica gravimétrica sugerida por Makkar *et al.* (1993), se utiliza polivinilpolipirrolidona (PVP), la cual forma complejos insolubles con polifenoles. Es un método inexacto, pues no son cuantificados los taninos insolubles.

Terrill *et al.*, (1992), propusieron un método para el análisis cuantitativo de taninos condensados, en el cual inicialmente se realiza una extracción de los taninos condensados "libres" o "extractables" (TCL), utilizando una mezcla de acetona, agua y éter dietílico, seguida de una extracción de proteína (TCP) y (TCF) utilizando dodecil sulfato de sodio (SDS) con 2-mercaptoetanol y calor. La concentración de taninos condensados en las tres fracciones se determina por método colorimétrico con butanol-HCl descrito por Bate-Smith (1973). Las curvas estándar se preparan con taninos purificados disueltos en agua para TCL y disueltos en SDS para TCP y TCF.

2.6 DEGRADACIÓN *in situ*

La digestión en los rumiantes es un proceso complejo que involucra la interacción dinámica entre la dieta, la población microbiana y el animal (Mertens, 1993). El estudio de la cinética de la digestión es importante, pues determina la proporción de nutrimentos consumidos que pueden ser absorbidos y utilizados por el animal (Salcedo, 1995).

Los datos de la cinética pueden ser recolectados tanto usando un método *in vitro*, como *in situ*, y los componentes medidos pueden variar desde los específicos o la materia seca (Mertens, 1993).

Considerando los aspectos anatómico y mecánico, el tracto digestivo de los rumiantes puede ser dividido en tres compartimentos con propiedades digestivas y de pasaje específicas: rumen-retículo, intestino delgado e intestino grueso; en el rumen e intestino grueso, la digestión ocurre primeramente por fermentación microbiana, en tanto que en el intestino delgado, las enzimas del sistema digestivo del animal, degradan los componentes del alimento (Perny y Jumars, 1987). En sentido estricto, la digestión ruminal está representada por la fracción del alimento que desaparece entre el cardias y el orificio retículo-omasal (Salcedo, 1995).

Los diversos componentes de los alimentos presentan diferente tasa de pasaje; los solubles se disuelven y salen del rumen a la velocidad de paso de los líquidos, los concentrados (granos) pasan con mayor rapidez que las partículas de fibras largas (forrajes y pajas), las cuales son retenidas selectivamente y rumiadas (Salcedo, 1995).

La desaparición de un sustrato o alimento del rumen es el resultado entre dos eventos que ocurren simultáneamente: la fermentación ruminal y el pasaje del alimento fuera del rumen. Existen varias técnicas para su medición, realizándose *in vivo*, *in vitro* e *in situ* (Salcedo, 1995).

La degradación *in vivo*, que evalúa la degradación aparente de los alimentos, es limitada para describir los efectos digestivos, al no diferenciar la cantidad de sustrato que es degradado en rumen y cuanto es digerido posruminalmente (Huntington y Givens, 1995). Otro inconveniente del método es que no permite estimar la tasa de degradación de los diferentes materiales en el rumen, la cual es tan importante como la cantidad total que es degradada (Romero, 1990).

La cinética de la degradación de la fermentación ruminal puede ser también evaluada por técnicas *in vitro* (Tilley y Terry, 1963; Aufrere *et al.*, 1991).

Un método directo para medir la degradación ruminal de los alimentos es la técnica *in situ*, que consiste en depositar determinadas cantidades de muestra en bolsas porosas de material no degradable y colocarlas en el rumen de animales

fistulados, durante períodos determinados (McQueen *et al.*, 1980).

Burton *et al.* (1967) y Barnes (1973), informan que existe correlación entre los valores de digestibilidad de varios forrajes, encontrados por los métodos *in situ*, *in vivo* e *in vitro*.

El uso de la técnica *in situ* ofrece algunas ventajas sobre los métodos *in vivo* e *in vitro*, entre las que destacan: relativamente rápida, económica, eficiente y además, estima la tasa y digestión de los alimentos (Bhargava y Ørskov, 1987; Ørskov *et al.*, 1980). En este contexto, Salcedo (1995), añade que la muestra al ser sometida a un ambiente ruminal real, permite la descripción objetiva de la utilidad potencial y su cinética de utilización, así como la clasificación de los sustratos en una escala de valor relativo, cuando varios son evaluados en condiciones similares.

Sin embargo, el método *in situ* tiene varias limitaciones importantes como: la confinación de la muestra en un bolsa, no es sometida al proceso de prensión, masticación y rumia; el alimento no escapa del rumen (como ocurre *in vivo*), cuando la partícula ha alcanzado un tamaño adecuado para abandonar el compartimento; la medición de los residuos del material incubado, no necesariamente corresponde solo al efecto de fermentación (Ørskov *et al.*, 1980).

Otra desventaja inherente a este método son diversas fuentes de variación, como: las características de las bolsas (Huntington y Givens, 1995) y el procesamiento aplicado a los sustratos previa incubación (López *et al.*, 1995). Además, la relación entre la cantidad de muestra y tamaño de la bolsa, la secuencia de introducción de las bolsas al rumen y su posición en este compartimento, el tiempo de incubación, el uso de repeticiones, las variaciones debidas a animales y la ración de los mismos (Udem y Van Soest, 1984; Nocek, 1985). Por otra parte, Mertens (1993), agrega como otra fuente de variación, la aplicación de diversos modelos en el análisis e interpretación de los datos.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el mundo, la demanda creciente de alimentos de origen animal con valor nutritivo y bajo costo, inducen a la búsqueda de metodologías que conduzcan a la utilización racional de recursos forrajeros regionales en la alimentación de los animales.

México presenta diversidad de especies arbóreas y arbustivas nativas que son una fuente potencial de forraje para la ganadería, tanto en época de lluvia como en época de estiaje. Sin embargo, aún cuando algunas han sido utilizadas en forma tradicional en sistemas extensivos de producción, se desconocen muchas de sus características agrotécnicas, composición química, toxicidad y potencial nutritivo.

La leguminosa arborea *Gliricidia sepium*, planta nativa de regiones tropicales representa una fuente alternativa de proteína suplementaria para incrementar la productividad y reducir los costos de alimentación en rumiantes.

Por lo tanto, es necesario realizar estudios de requerimientos para su desarrollo óptimo, así como su caracterización química, su concentración en sustancias antinutricionales y su digestibilidad, con la finalidad de hacer uso adecuado de este recurso forrajero en la producción animal.

4. JUSTIFICACIÓN

En países en desarrollo como México, la identificación de compuestos químicos y la realización de ensayos biológicos que puedan relacionar el consumo para la utilización del follaje y frutos tanto de arbóreas como de arbustivas registra retraso, cuando debe ser una de las prioridades en la investigación en el área de la producción animal.

En general, faltan procedimientos estandarizados para la detección y cuantificación de compuestos antinutricionales, lo cual representa una limitante en la utilización de éstos recursos forrajeros de alto valor proteico.

Con base en las consideraciones anteriores, el presente estudio fué realizado para determinar en *Gliricidia sepium*, el efecto de los factores: tiempo de rebrote y altura de poda, sobre la composición química nutricional, la concentración de taninos condensados (sustancias antinutricionales) y su relación con la degradación *in situ* de la materia seca y el nitrógeno.

Su finalidad es posibilitar el aprovechamiento de *Gliricidia sepium*, leguminosa arbórea nativa de trópico seco como fuente proteica, para utilizarse sola o como suplemento en la alimentación de rumiantes, eficientando su productividad.

5. HIPÓTESIS

El contenido en taninos condensados y fenoles totales en *Gliricidia sepium* aumenta con la edad del rebrote y altura de poda, induciendo estos factores efectos adversos sobre la degradación *in situ* de la materia seca y nitrógeno.

6. OBJETIVOS

6.1 GENERAL

Relacionar la concentración en taninos condensados y fenoles totales de la porción comestible (hojas y tallos ≤ 4 mm diámetro) de *Gliricidia sepium*, con la edad del rebrote y la altura de poda, así como con la degradación *in situ* de la materia seca y nitrógeno.

6.2 PARTICULARES

- Evaluar la composición químico nutricional en *Gliricidia sepium* a diferentes alturas de poda y edades de rebrote.
- Determinar el efecto de la edad de rebrote y la altura de poda sobre la concentración de taninos condensados y fenoles totales.
- Estimar la degradación *in situ* de la materia seca y nitrógeno por efecto de la edad del rebrote y la altura de poda.
- Relacionar la composición químico nutricional, la concentración de taninos condensados y fenoles, con la degradación *in situ* de la materia seca y nitrógeno.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

La recolección de muestras se hizo de la porción comestible (hojas y tallos ≤ 4 mm de diámetro), de 18 árboles de *Gliricidia sepium* de 40 meses de edad, en el rancho "Buenos Aires", ubicado en el municipio de Coquimatlán, Colima, el cual está situado geográficamente a los 19°13' latitud norte y a los 104°48' longitud oeste, con una altitud de 420 msnm, con precipitación pluvial media anual de 880 mm y temperatura media anual de 25°C. El suelo es arenoso con pH ligeramente alcalino (7.2), pobre en fósforo y potasio.

Los árboles utilizados fueron sembrados en enero de 1993 en bolsas de plástico negras y en septiembre del mismo año, se plantaron en línea con una distancia entre planta de un metro y entre surcos a dos metros. A los ocho meses de edad y altura promedio de 132 cm, se proporcionó fertilización con NPK (20-20-29 kg/ha).

Los 18 árboles utilizados fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos (A y B) de nueve unidades, y éstos a su vez, divididos en tres subgrupos (1, 2 y 3), de tres unidades experimentales cada uno.

En mayo de 1996 se realizó una poda de homogeneización, para posteriormente hacer la recolección de muestras primarias de podas de los árboles del grupo A, en los meses de junio y septiembre (4 y 8 semanas de rebrote), así como de las podas de los árboles del grupo B en julio y noviembre (12 y 16 semanas de rebrote). En los subgrupos 1, 2 y 3 de cada grupo, el corte se realizó a los 40, 60 y 80 cm sobre el nivel del suelo, respectivamente.

Una vez seleccionadas las muestras contractuales, éstas se colocaron en bolsas de plástico negras y en cajas térmicas con hielo para su traslado al laboratorio, donde en una porción se determinó su contenido en humedad por deshidratación a 60°C, en horno con flujo de aire forzado hasta peso constante. El resto se conservó a 0 °C.

Se tomaron submuestras, y se deshidrataron a 60°C en horno con flujo de aire forzado; posteriormente se redujeron a partículas de 1 mm en molino Wiley, y se conservaron para su análisis en frascos de vidrio color ámbar y en la oscuridad.

7.2 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA NUTRICIONAL

7.2.1 MÉTODOS ANALÍTICOS.

La determinación del contenido en materia seca (MS), proteína cruda (PC), fibra cruda (FC), cenizas y calcio, se hicieron siguiendo la metodología descrita en AOAC (1980). La cuantificación de fósforo se efectuó por método colorimétrico con formación de un complejo de fosfomolibdovanadato de amonio (AOAC,1984). La valoración de fibra detergente neutro (FDN) se basó en la técnica descrita por Van Soest y Wine (1967).

La estimación de la energía metabolizable (EM), se realizó aplicando la ecuación propuesta por García-Trujillo (1983):

$$EM \text{ (Kcal/kg MS)} = 37.28\% \text{ DMO} - 148.9.$$

7.3 CONTENIDO EN TANINOS CONDENSADOS Y FENOLES TOTALES

La estimación cuantitativa de taninos condensados libres (TCL), taninos condensados adheridos a proteína (TCP), y taninos condensados adheridos a fibra (TCF), se hizo siguiendo la metodología descrita por Terrill *et al.* (1992), modificada por Romero *et al.*, (2000). Los fenoles totales (FT) se determinaron por el método del azul de Prusia (Price y Butler, 1977).

7.3.1 REACTIVOS

- a) Solución de acetona-agua 7:3 v/v con ácido ascórbico al 0.1%.
- b) Reactivo butanol-HCl. 95% de butanol y 5% de HCl al 36%.
- c) Reactivo DSS. 10 g litro^{-1} de dodecil sulfato de sodio con 50 g litro^{-1} de 2-mercaptoetanol y tris-cloruro 10 mM. Ajustar a pH 8.0 con NaOH.
- d) Metanol-agua 1:1 v/v.

7.3.2 PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES.

Los taninos condensados para la preparación de estándares se extrajeron de hojas liofilizadas de *Flemigia macrophyllia*, utilizando acetona-agua 7:3 v/v, repitiendo tres veces la operación y eliminando la acetona al vacío en baño maría. El extracto acuoso se lavó tres veces con éter dietílico para eliminar pigmentos y lípidos, y se centrifugaron a 18,000 x g durante 15 min, para descartar restos de componentes diferentes a taninos; enseguida se liofilizó y redisolvió en metano-agua 1:1, y se purificó por cromatografía de partición, empleando Sephadex LH-20 (Terrill *et al.*, 1990). Los taninos purificados se liofilizaron y conservaron en desecador.

Posteriormente se elaboraron curvas estándar con taninos purificados disueltos en agua para TCL, y en reactivo DDS para los TCF y TCP. Se prepararon

soluciones estándares con concentraciones de 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550 y 600 $\mu\text{g/ml}$.

7.3.3 EXTRACCIÓN DE FENOLES Y TANINOS

Se pesaron por triplicado 500 mg de muestra y se colocaron en tubos de centrífuga de 50 ml con tapón de rosca, enseguida se hicieron tres extracciones con 20 ml de solución acetona-agua 7:3, mezclando en agitador Vortex y centrifugando a 18,000 x g, durante 15 min, para separar el líquido y los sólidos.

Los residuos sólidos se conservaron para la determinación de TCP y TCF, en tanto que los sobrenadantes se colocaron en embudos de separación de 100 ml, se les añadió 40 ml de eter etílico, se mezclaron y dejaron en reposo hasta separación de dos fases, eliminando la fase superior (solventes orgánicos) por aspiración. La fase acuosa que contiene fenoles y taninos libres se sometió a evaporación al vacío en baño maría a temperatura menor de 30°C para eliminar residuos de solvente, enseguida se centrifugó a 18,000 x g durante 15 min, para remover los restos de compuestos que no son taninos, y se desechó el precipitado. Los extractos acuosos se aforaron a 25 ml con agua y se conservaron en frascos ámbar, en refrigeración a 0°C y en oscuridad. Este extracto se utilizó para la cuantificación de TCL y FT.

7.3.4 TANINOS CONDENSADOS LIBRES

Se colocaron por triplicado en tubos de ensayo con tapón de rosca, 1 ml de extracto y 6 ml de reactivo butanol-HCl; se mezclaron en agitador Vortex, se colocaron en agua a ebullición por 75 min y se enfriaron posteriormente utilizando hielo. Se midió la absorbancia en espectrofotómetro a 550 nm utilizando como blanco, el reactivo butanol-HCl. A partir de las lecturas obtenidas, se calculó la concentración de TCL, utilizando una curva estándar.

7.3.5 TANINOS CONDENSADOS ADHERIDOS A PROTEÍNA

Para la determinación de TCP, se utilizaron los residuos sólidos de la extracción de FT y TCL, los cuales fueron depositados en tubos de centrifuga y se les añadió 15 ml de reactivo DSS. Posteriormente se mezclaron en agitador Vortex, se colocaron en agua a ebullición por 45 minutos y se enfriaron a temperatura ambiente, para posteriormente centrifugarlos a 18,000 x g, durante 15 min y separar los sobrenadantes de los residuos.

Estos residuos se conservaron para la determinación de TCF, en tanto que los sobrenadantes se centrifugaron a 18,000 x g por 15 min, para descartar restos de compuestos que no son taninos y se aforaron a 50 ml con reactivo DSS. Acto seguido se depositaron por duplicado en tubos de ensayo, 1 ml del extracto y 6 ml de reactivo de butanol-HCl, mezclándolos en agitador Vortex.

Por último se colocaron en agua a ebullición durante 75 minutos, se enfriaron en hielo y se midió su absorbancia en espectrofotómetro a 550 nm, utilizando como blanco el reactivo butanol-HCl. A partir de las lecturas obtenidas, se calculó la concentración de TLP utilizando una curva estándar.

7.3.6 TANINOS CONDENSADOS ADHERIDOS A FIBRA

En la determinación de TCF se utilizaron los residuos sólidos de la cuantificación de TCP, los cuales se secaron en estufa a 50°C hasta peso constante, posteriormente se pesaron por triplicado, 50 mg y se colocaron tubos de ensayo, adicionándoles 1 ml de reactivo DSS y 6 ml de reactivo de butanol-HCl. Después se colocaron en agua a ebullición por 75 min, se enfriaron en hielo y filtraron. Por último, se midió la absorbancia en espectrofotómetro a 550 nm, utilizando como blanco el reactivo butanol-HCl. A partir de las lecturas obtenidas, se calculó la concentración de TCF comparando con la curva estándar.

7.3.7 REACTIVOS PARA FENOLES

- a) Reactivo de hierro. 20g litro⁻¹ de $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ en HCl 2M.
- b) Solución de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 0.08M.

7.3.8 PREPARACIÓN DE ESTÁNDAR PARA FENOLES

Se utilizó catequina disuelta en etanol, preparando soluciones con concentraciones de 0, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, y 1000 mg gramo⁻¹, con las cuales se elaboró una curva estándar.

7.3.9 METODO DEL AZUL DE PRUSIA PARA FENOLES TOTALES

Se utilizó el extracto preparado inicialmente conteniendo fenoles y taninos, de éste se depositaron por triplicado 0.5 ml en matraces Erlenmeyer y se les adicionó 20 ml de agua. A intervalos exactos de 1 minuto, se les añadió 3 ml de reactivo de hierro, y después de transcurridos 20 minutos, se les agregó 3 ml de solución de ferrocianuro de potasio y se midió inmediatamente la absorbancia en espectrofotómetro a 720 nm contra un blanco de reactivos. A partir de las lecturas obtenidas, se calculó la concentración de FT comparando con la curva estándar.

7.4 DEGRADACIÓN *in situ* DE MATERIA SECA Y DE NITRÓGENO

7.4.1 TÉCNICA

Esta determinación se realizó con base en la técnica descrita para bovinos por Neathery (1968), haciendo extrapolación a ovinos y modificando el tamaño de las bolsas, su disposición en el tubo de látex y el número de repeticiones,.

Se utilizó un borrego encastado de Pelibuey, macho de 35 kg de peso, 10 meses de edad, castrado, desparasitado, vitaminado, fistulado y canulado a nivel del

rumen, y alimentado por 10 días con una ración de adaptación con inclusión de 30% (base MS) de *Gliricidia sepium*. Durante todo el experimento, el animal recibió para consumo a libre acceso, agua y alimento (Cuadro 3)

Cuadro 3. Composición de la ración.

Ingredientes	%
<i>Gliricidia sepium</i> henificada	30.00
Pasta de soya	4.74
Cascarilla de algodón	16.26
Alfalfa henificada	6.67
Sorgo	27.12
Harina de pescado	1.35
Melaza	10.16
Urea	1.35
Sal	0.70
Roca fosfórica	0.70
Vitaminas y minerales traza	0.25
Total	100.00
Análisis Químico Proximal	
Proteína cruda (N x 6.25)	20.70
Extracto etéreo	2.50
Fibra cruda	10.30
Cenizas	27.00
Extracto no nitrogenado	39.50
EM (Mcal/Kg)	2.28

Se emplearon 3 g de muestra por tratamiento y período de observación con tres repeticiones, depositándolas en bolsas de nylon (5 x 10 cm y poro de 53 micras) y cerrándolas con cordón de nylon (9 kg de fuerza).

Para la determinación de la porción soluble, se colocaron las bolsas con muestra en agua destilada a 40°C por 10 minutos y posteriormente se secaron en horno de aire forzado a 60°C por 48 horas.

Las bolsas que se sometieron a incubación en el rumen, atadas a un tubo de polietileno semiflexible (96.5 cm de largo por 6.35 mm de diámetro), uniendo sus extremos con hilo de nylon formando un anillo, se introdujo en el rumen del borrego y se fijó a la tapa de la cánula.

El período máximo de incubación en el rumen fue de 48 horas, con observaciones a las 0, 6, 12, 24 y 48 horas. Una vez extraídas las bolsas del rumen, se lavaron con agua corriente a temperatura ambiente por diez minutos, se desecaron en estufa de aire forzado a 60°C por 48 horas, se determinó por diferencia de peso la cantidad de MS degradada y posteriormente se cuantificó el nitrógeno por el método Kjeldahl (AOAC, 1980).

Para la estimación de la cinética de degradación, por su simplicidad y significancia biológica, se utilizó el modelo exponencial de Ørskov y Mc Donald, (1979):

$$Y = A + B [1 - \text{EXP}(- ct)]$$

Donde:

Y: degradación acumulativa del componente nutritivo (%) al tiempo t

A: desaparición inicial o porción soluble

B: fracción potencialmente degradable por acción de la fermentación

c: tasa de degradación por acción fermentativa

t: tiempo de incubación.

7.5 DISEÑO ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) para un diseño completamente al azar en un arreglo factorial; los factores fueron: la altura de poda con tres niveles (40, 60 y 80 cm) y el tiempo de rebrote con 4 niveles (4, 8, 12 y 16 semanas), con tres repeticiones. El modelo matemático fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + T_j + (AT)_{ij} + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ijk} : variable dependiente

μ : media poblacional

A_i : efecto de la i -ésima altura de poda

T_j : efecto del j -ésimo tiempo de rebrote

$(AT)_{ij}$: efecto de interacción entre altura y tiempo

E_{ij} : error experimental

Cuando se presentaron diferencias entre los factores en estudio, la comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

8. RESULTADOS

8.1 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA NUTRICIONAL

Los resultados de la caracterización química nutricional de *Gliricidia sepium*, se muestran en el cuadro 4.

Cuadro 4. Caracterización químico nutricional de *Gliricidia sepium*.

Altura de poda	Tiempo de Rebrote (sem)	MS (%)	PC (%)	FC (%)	FDN (%)	EM (Kcal/kg MS)	Ceniza (%)	Ca (%)	P (%)
40	4	17,02	21.61	18.79	43.57	2.19	10.85	2.16	0.21
	8	18.99	23.89	20.47	44.29	2.18	10.29	2.03	0.20
	12	22.18	22.23	22.27	46.46	2.19	10.4	2.04	0.16
	16	22.4	20.56	23.37	47.79	2.16	9.59	1.91	0.17
60	4	17.45	24.29	18.87	43.69	2.19	10.72	2.19	0.21
	8	18.55	23.53	21.18	44.88	2.17	10.85	2.12	0.20
	12	21.84	22.19	22.31	46.28	2.10	10.59	2.05	0.17
	16	21.57	21.42	23.53	48.27	2.10	9.77	1.90	0.16
80	4	17.01	24.28	18.83	43.85	2.10	10.83	2.20	0.22
	8	18.21	23.33	21.1	44.5	2.14	10.42	2.11	0.19
	12	22.36	22.17	22.44	46.63	2.02	10.63	2.06	0.17
	16	22.17	20.57	23.77	49.06	2.08	9.90	1.91	0.17
Media		19.98	22.67	21.41	45.78	2.13	10.40	2.06	0.19
ES		0.66	0.45	0.53	0.55	0.01	0.13	0.03	0.01

MS: Materia seca, PC: Proteína cruda. FC: Fibra cruda, FDN: Fibra detergente neutro. EM: Energía metabolizable aplicando la ecuación propuesta por García-Trujillo (1983).

En el cuadro 5, se muestra el ANDEVA para las características químico nutricionales de *Gliricidia sepium*, en donde se encontró efecto de interacción para fibra cruda ($P < 0.05$) y contenido de cenizas ($P < 0.01$). En cuanto al factor principal tiempo de rebrote, todas las variables tuvieron influencia estadística ($P < 0.01$) y para la altura de poda, la PC, la FC y las cenizas presentaron diferencia estadística ($P < 0.01$).

Cuadro 5. ANDEVA de la composición químico nutricional de *Gliricidia sepium*.

	Tiempo de rebrote (semanas)	Altura de poda (cm)	Interacción ^{CV}	(%)
Materia seca (%)	**	NS	NS	2.04
Proteína cruda (%)	**	**	NS	0.73
Fibra cruda (%)	**	**	*	0.85
FDN (%)	**	NS	NS	1.87
EM (Mcal/Kg MS)	**	NS	NS	3.19
Ceniza (%)	**	**	**	1.45
Calcio (%)	**	NS	NS	2.99
Fósforo (%)	**	NS	NS	7.92

FDN: Fibra detergente neutro, EM: Energía metabolizable.

* Significativo ($P < 0.05$), ** Significativo ($P < 0.01$), NS, No significativo..

El efecto de interacción para FC se indica en el cuadro 6, en donde dicho efecto solo fue en magnitud, por lo que al aumentar el tiempo de rebrote se incrementó el contenido de FC sin importar la altura de poda, excepto a las ocho semanas en la altura de rebrote de 40 cm.

Cuadro 6. Efecto de interacción para el contenido de fibra cruda (%) en *Gliricidia sepium*.

Tiempo de rebrote (semanas)	Altura de poda (cm)		
	40	60	80
4	18.79 ± 0.048e	18.87 ± 0.050e	18.83 ± 0.028e
8	20.47 ± 0.100d	21.18 ± 0.082c	21.10 ± 0.115c
12	22.27 ± 0.233b	22.31 ± 0.063b	22.44 ± 0.125b
16	23.37 ± 0.068a	23.53 ± 0.054a	23.77 ± 0.120a

abcde. Literales distintas indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

En el caso de cenizas, se notó el efecto de interacción (cuadro 7), en donde el efecto fue en magnitud y sentido, en particular para la altura de poda de 60 cm y los diferentes tiempos de rebrote.

Cuadro 7. Efecto de interacción para el contenido en cenizas (%) en *Gliricidia Sepium*.

Tiempo de rebrote (semanas)	Altura de poda (cm)		
	40	60	80
4	10.85 ± 0.029a	10.72 ± 0.020 ab	10.83 ± 0.017a
8	10.29 ± 0.107c	10.85 ± 0.058a	10.42 ± 0.136bc
12	10.40 ± 0.115bc	10.59 ± 0.015abc	10.63 ± 0.043abc
16	9.59 ± 0.036d	9.77 ± 0.024d	9.90 ± 0.058d

abcd. Literales distintas indican diferencia significativa ($P < 0.01$).

La concentración en MS, FC y FDN, mostraron incremento en función del tiempo de rebrote, en tanto que el contenido de PC, EM, cenizas, calcio y fósforo, presentaron efecto lineal negativo por influencia del mismo factor (cuadro 8).

Cuadro 8. Efecto del tiempo de rebrote sobre la concentración químico nutricional en *Gliricidia sepium*

Tiempo de Rebrote (sem)	MS (%)	PC (% MS)	FC (% MS)	FDN (% MS)	EM (Kcal/kg MS)	Ceniza (% MS)	Ca (% MS)	P (% MS)
4	17.16c	23.39a	18.83d	43.70	2.15	10.80a	2.18a	0.21a
8	18.58b	23.57b	20.92c	44.55	2.16	10.52b	2.09b	0.20a
12	22.13a	22.20c	22.34b	46.45	2.10	10.54b	2.05b	0.17b
16	22.05a	20.51d	23.55a	48.37	2.10	9.75c	1.91c	0.17b
Media	19.98	22.42	21.41	45.77	2.13	10.40	2.06	0.19
ES	1.25	0.85	1.04	1.04	0.02	0.23	0.06	0.01

MS: Materia seca, PC: Proteína cruda, FC: Fibra cruda, FDN: Fibra detergente neutro, EM: Energía metabolizable aplicando la ecuación propuesta por García –Trujillo (1983). ES: Error Estándar

abc. Medias con literales distintas en columna, indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

En el cuadro 9, se anotan los valores de la altura de poda, en donde la MS, FDN, EM, calcio y fósforo no tuvieron significancia estadística. El contenido de PC

disminuyó con la altura de poda, efecto inverso presentó el contenido de FC en tanto que el contenido mayor en cenizas se obtuvo en 60 cm.

Cuadro 9. Efecto de la altura de poda sobre la concentración químico nutricional de *Gliricidia sepium*

Altura de poda (cm)	MS (%)	PC (% MS)	FC (% MS)	FDN (% MS)	EM (Kcal/kg MS)	Ceniza (% MS)	Ca (% MS)	P (% MS)
40	20.15	22.82a	21.22c	45.53	2.18	10.28b	2.03	0.19
60	19.85	22.60b	21.47b	45.78	2.13	10.48a	2.07	0.19
80	19.94	22.59b	21.53a	46.00	2.06	10.44a	2.07	0.19
Media	19.98	22.67	21.41	45.77	2.12	10.40	2.06	0.19
ES	0.09	0.07	0.09	0.14	0.03	0.06	0.01	0.00

MS: Materia seca, PC: Proteína cruda, FC: Fibra cruda, FDN: Fibra detergente neutro, EM: Energía metabolizable aplicando la ecuación propuesta por García-Trujillo (1983). ES: Error estándar.

abc. Medias con literales distintas por columna, indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

8.2 CONTENIDO DE TANINOS CONDENSADOS Y FENOLES TOTALES

Los resultados mostraron efecto de interacción para todas las fracciones de taninos (cuadro 10); TCL y TCT ($P < 0.01$); TCP y TCF ($P < 0.05$). En el caso del tiempo de rebrote todas las variables resultaron con significancia estadística ($P < 0.05$), y para altura de poda, presentaron diferencia significativa los TCL y TCT ($P < 0.01$), así como los FT ($P < 0.05$).

Cuadro 10. ANDEVA sobre el contenido en taninos condensados y fenoles totales (g/kg MS) en *Gliricidia sepium*.

	Tiempo de rebrote (semanas)	Altura de poda (cm)	Interacción ^{CV}	(%)
TCL	**	**	**	9.57
TCP	**	NS	*	6.38
TCF	**	NS	*	11.45
TCT	**	**	**	3.83
FT	**	*	NS	8.21

TCL: Taninos condensados libres, TCP: Taninos condensados adheridos a proteína, TCF: Taninos condensados adheridos a fibra, TCT: Taninos condensados totales, FT: Fenoles totales.

* Significativo ($P < 0.05$), ** Significativo ($P < 0.01$), NS: No significativo.

El efecto de interacción para los taninos condensados libres, totales y adheridos se muestran en el cuadro 11. Se observó una tendencia en aumentar el contenido de TCL por efecto del tiempo de rebrote y altura de poda. En el caso de los TCP, existió efecto en magnitud y sentido por influencia tanto del tiempo de rebrote como de la altura de poda, efecto inverso se tuvo en los taninos condensados adheridos a fibra. Para los taninos condensados totales, la diferencia se presentó a 16 semanas en la altura de poda de 40 y 80 cm, y valores similares estadísticamente con 12 semanas de rebrote y 80 cm de altura de poda, el resto de los valores fueron menores estadísticamente ($P < 0.05$).

Cuadro 11. Efecto de interacción de los taninos condensados libres, adheridos y totales (g/kg MS) en *Gliricidia sepium*

Altura de poda (cm)	Tiempo de Rebrote (semanas)	TCP			
		TCL	TCP	TCF	TCT
40	4	2.02f	6.41bcd	5.88a	14.31b
	8	2.78def	6.34cd	4.58bcd	13.70b
	12	3.75bc	7.31abc	3.09e	14.15b
	16	4.55ab	8.85abcd	4.56bcd	15.96a
60	4	2.14ef	6.24d	5.46ab	13.84b
	8	2.92de	6.41bcd	4.85abc	14.18b
	12	3.37cd	7.39ab	3.32de	14.08b
	16	3.87bc	6.12d	4.37bcd	14.36b
80	4	2.03f	6.06d	5.59ab	13.68b
	8	2.90cd	6.55bcd	4.82abc	14.27b
	12	4.98a	7.68a	3.95cde	16.61a
	16	5.25a	7.37abc	3.55de	16.17a
Media		3.38	6.73	4.50	14.61
Error estándar		0.32	0.16	0.26	0.29

TCL: Taninos condensados libres, TCP: Taninos condensados adheridos a proteína, TCF: Taninos condensados adheridos a fibra, TCT: Taninos condensados totales. abcde. Literales distintas, indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

El efecto del tiempo de rebrote sobre los FT y los taninos condensados se indican en el cuadro 12. Los TCL y TCP se incrementaron con la edad del rebrote, observándose efecto inverso para FT; los TCT no mostraron diferencia estadística.

Cuadro 12. Efecto del tiempo de rebrote sobre los fenoles totales, taninos condensados libres, adheridos y totales (g/kg MS) en *Gliricidia sepium*.

Tiempo de Rebrote (semanas)	TCL	TCP	TCF	TCT	FT
4	2.06c	6.24b	5.64a	13.94	10.13a
8	2.87bc	6.10b	4.75ab	14.05	8.48b
12	4.03ab	7.46a	3.45c	14.95	8.38b
16	4.56a	6.78ab	4.16bc	15.50	7.42b
Media	3.38	6.64	4.50	14.61	8.60
ES	0.56	0.31	0.46	0.37	0.56

TCL: Taninos condensados libres, TCP: Taninos condensados adheridos a proteína, TCF: Taninos Condensados adheridos a fibra, TCT: Taninos condensados totales, FT: Fenoles totales.

ES: Error Estándar.

abc. Medias con literales distintas en columna indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

En el cuadro 13, se muestra el efecto de la altura de poda sobre la concentración de los taninos condensados y los FT. Con un efecto similar enTCL y TCT en aumentar con la altura de la planta y con un efecto inverso en relación a los FT; los TCP y TCF no mostraron diferencia estadística.

Cuadro 13. Efecto de la altura de poda sobre los fenoles totales, taninos condensados libres, adheridos y totales en *Gliricidia sepium* (g/kg MS).

Altura de poda (cm)	TCL	TCP	TCF	TCT	FT
40	3.27b	6.73	4.53	14.53b	8.94a
60	3.07c	6.54	4.50	14.11c	8.67b
80	3.79a	6.91	4.48	15.18a	8.20c
Media	3.38	6.73	4.50	14.61	8.60
ES	0.21	0.11	0.01	0.31	0.22

TCL: Taninos condensados libres, TCP: Taninos condensados adheridos a proteína, TCF: Taninos Condensados adheridos a fibra, TCT: Taninos condensados totales, FT: Fenoles totales.

ES: Error estándar.

abc. Medias con literales distintas en columna indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

La relación porcentual del contenido de taninos condensados libres y adheridos se anotan en el cuadro 14. Los resultados mostraron un valor mayor de TCP, en donde a las 12 semanas de rebrote se obtuvieron sus valores más altos.

Por otra parte, el contenido de TCF resultaron en la segunda mejor relación, con los valores más altos a las cuatro semanas de rebrote. Finalmente los TCL aumentaron en su relación, cuando la planta tuvo un mayor tiempo de rebrote.

Cuadro 14. Relación porcentual del contenido en taninos condensados totales, libres y adheridos.

Tiempo de Rebrote (semanas)	Altura de Poda (cm)	TCT	% TCT		
			TCL	TCP	TCF
4	40	14.31	14.12	44.79	41.09
	60	13.84	15.46	45.09	39.45
	80	13.68	14.84	44.30	40.86
8	40	13.70	20.29	46.28	33.43
	60	14.18	20.59	45.20	34.21
	80	14.27	20.32	45.90	33.78
12	40	14.15	26.50	51.66	21.84
	60	14.08	23.93	52.48	23.59
	80	16.61	29.98	46.24	23.78
16	40	15.96	28.51	42.92	28.57
	60	14.36	26.95	42.62	30.43
	80	16.17	32.47	45.58	21.95
Media		14.61	22.83	46.09	31.08
ES		0.29	1.78	0.88	2.02

TCL: Taninos condensados libres, TCP: Taninos condensados adheridos a proteína, TCF: Taninos Condensados adheridos a fibra, TCT: Taninos condensados totales, FT: Fenoles totales.

ES: Error Estándar.

8.3 DEGRADACIÓN *in situ* DE LA MATERIA SECA Y NITRÓGENO.

Los resultados de la degradación *in situ* de la materia seca de *Gliricidia sepium* se muestran en el cuadro 15.

Cuadro 15. Resultados de la degradación *in situ* de la materia seca de *Gliricidia sepium*.

Altura de poda (cm)	Tiempo de rebrote (semanas)	A (%)	B (%)	A + B (%)	C (%/h)
40	4	20.63	49.88	70.51	8.58
	8	21.13	48.33	69.46	8.71
	12	20.33	48.66	69.00	7.61
	16	21.30	47.63	68.93	9.04
60	4	19.66	49.33	69.00	8.01
	8	19.20	50.21	69.41	7.20
	12	18.10	49.14	67.24	7.67
	16	17.97	49.02	66.98	8.07
80	4	16.73	49.77	66.50	7.73
	8	16.03	51.89	67.92	7.26
	12	15.97	49.95	65.41	7.74
	16	15.90	52.35	67.49	6.35
Media		18.58	49.68	68.16	7.83
ES		0.61	0.39	0.43	0.21

A: Degradación inicial o fracción soluble (%), B: Fracción potencialmente degradable por acción de fermentación. (%), C: Tasa de degradación por acción fermentativa (%/h).

En el cuadro 16 se muestra el ANDEVA para la degradación *in situ* de la materia seca de *Gliricidia sepium*. Se observó efecto de la altura de poda para las variables fracción soluble ($P < 0.01$) y fracción potencialmente degradable ($P < 0.05$).

Cuadro 16. ANDEVA sobre la degradación *in situ* de la materia seca de *Gliricidia sepium*.

	Tiempo de rebrote (semanas)	Altura de poda (cm)	Interacción ^{cv}	(%)
A	NS	**	NS	4.82
B	NS	NS	NS	4.70
A+B	NS	*	NS	3.08
C	NS	NS	NS	15.87

A: Degradación inicial o fracción soluble (%), B: Fracción potencialmente degradable por acción de fermentación. (%), C: Tasa de degradación por acción fermentativa (%/h).

* Significativo (P < 0.05), ** Significativo (P < 0.01), NS: No significativo.

En el cuadro 17, se anota el efecto de la altura de poda sobre la degradación de la materia seca de *Gliricidia sepium*, en donde se observó una relación inversa negativa entre la fracción soluble y el incremento en la altura de poda, efecto estadísticamente significativo (P < 0.05), similar tendencia se obtuvo con la fracción A+B, la cual disminuyó con la altura de poda, aunque existió similitud estadística entre 40 y 60 y su vez entre 60 y 80 cm de altura de poda.

Cuadro 17. Efecto de la altura de poda sobre las variables de degradación *in situ* de la materia seca de *Gliricidia sepium*.

Altura de poda (cm)	A (%)	B (%)	A+B (%)	C (%/h)
40	20.85a	48.63	69.48a	8.49
60	18.73b	49.43	68.16ab	7.77
80	16.16c	50.99	66.83b	7.27
Media	18.58	49.68	68.16	7.84
Error estándar	1.36	0.69	0.77	0.35

A: Degradación inicial o fracción soluble (%), B: Fracción potencialmente degradable por acción de fermentación. (%), C: Tasa de degradación por acción fermentativa (%/h).

abc. Medias con literales distintas en columna, indican diferencia significativa (P < 0.05).

Los resultados de la degradación *in situ* del nitrógeno de *Gliricidia sepium*, se muestran en el cuadro 18.

Cuadro 18. Resultados de la degradación *in situ* del nitrógeno de *Gliricidia sepium*.

Altura de poda (cm)	Tiempo de rebrote (semanas)	A (%)	B (%)	A + B (%)	C (%/h)
40	4	26.02	37.87	63.88	8.76
	8	24.56	34.47	62.02	8.44
	12	25.55	35.67	61.22	7.58
	16	26.74	34.86	61.60	9.08
60	4	24.74	35.38	60.12	9.69
	8	25.58	32.32	57.91	8.30
	12	22.37	39.35	61.72	7.47
	16	20.19	38.27	58.46	7.68
80	4	18.59	38.60	57.19	8.27
	8	17.23	40.89	58.12	7.10
	12	18.17	37.28	55.45	6.63
	16	17.86	38.65	56.51	6.81
Media		22.30	36.97	59.52	7.98
ES		1.05	0.70	0.75	0.27

A: Degradación inicial o fracción soluble (%), B: Fracción potencialmente degradable por acción de fermentación. (%), C: Tasa de degradación por acción fermentativa (%/h).

En el cuadro 19 se muestra el ANDEVA para el contenido de degradación *in situ* del nitrógeno de *Gliricidia sepium*, en el cual se percibe el efecto de la altura de poda para las variables fracción soluble y fracción potencialmente degradable ($P < 0.01$).

Cuadro 19. ANDEVA sobre la degradación *in situ* del nitrógeno de *Gliricidia sepium*.

	Tiempo de rebrote (semanas)	Altura de poda (cm)	Interacción ^{CV}	(%)
A	NS	**	NS	8.36
B	NS	NS	NS	8.65
A+B	NS	**	NS	5.28
C	NS	NS	NS	20.96

A: Degradación inicial o fracción soluble (%), B: Fracción potencialmente degradable por acción de fermentación. (%), C: Tasa de degradación por acción fermentativa (%/h).

** Significativo ($P < 0.01$), NS: No significativo.

El efecto de la altura de poda sobre la digestibilidad del nitrógeno de *Gliricidia sepium*, se evidencia en el cuadro 20; respecto a este factor, la fracción soluble y la fracción potencialmente degradable presentaron tendencia a disminuir cuando se incrementó la altura de poda. Los valores de la fracción soluble en 40 y 60 cm fueron similares estadísticamente, ambos fueron diferentes con 80 cm. Por otra parte en la fracción A+B, 40 y 60 cm fueron similares, aunque este último también fue similar estadísticamente con 80 cm.

Cuadro 20. Efecto de la altura de poda sobre las variables de degradación *in situ* del nitrógeno de *Gliricidia sepium*.

Altura de poda (cm)	A (%)	B (%)	A+B (%)	C (%/h)
40	25.71a	36.21	62.18a	8.49
60	23.22a	36.33	59.55ab	8.28
80	19.96b	38.86	56.81b	7.20
Media	22.30	37.13	59.51	7.99
Error estándar	1.67	0.86	1.55	0.40

A: Degradación inicial o fracción soluble (%), B: Fracción potencialmente degradable por acción de fermentación. (%), C: Tasa de degradación por acción fermentativa (%/h).

ab. Medias con literales distintas en columna, indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

Las ecuaciones exponenciales que permiten predecir la degradación ruminal de la materia seca y del nitrógeno por efecto de la altura de poda, se representan en el cuadro 21.

Cuadro 21. Ecuaciones exponenciales de predicción de la degradación ruminal de la materia seca y del nitrógeno de *Gliricidia sepium*.

Altura de Poda (cm)	Degradación de la materia seca	Degradación del nitrógeno
40	$Y = 2.72 + 65.58 [1 - \text{EXP}(-0.0802 t)]$	$Y = -2.22 + 63.91 [1 - \text{EXP}(-0.0715 t)]$
60	$Y = 3.34 + 64.73 [1 - \text{EXP}(-0.0759 t)]$	$Y = -5.05 + 63.43 [1 - \text{EXP}(-0.0807 t)]$
80	$Y = 3.27 + 64.62 [1 - \text{EXP}(-0.0737 t)]$	$Y = -5.93 + 64.10 [1 - \text{EXP}(-0.0765 t)]$

En el cuadro 22, se presentan los coeficientes de correlación simple entre las variables consideradas en este estudio para *Gliricidia sepium*, apreciándose una correlación positiva del tiempo de rebrote con el contenido en TCL, TCT, FC, y FDN y de forma negativa con FT, TCF, PC y ceniza, en tanto que la altura de poda se correlacionó negativamente con la EM y la degradación in situ de materia seca (DISMS) y la degradación del nitrógeno (DISN).

Los TCL presentaron una correlación positiva con TCP, TCT, FC y FDN, y se correlacionaron de forma negativa con FT, TCF, PC, CEN, y EM; en los TCP la correlación fue con TCT y FC en forma positiva y negativa con TCF; así mismo, para los TCF se observó correlación positiva con FT y PC, y negativa con FC y FDN; respecto a los TCT, el coeficiente de correlación positiva fue con FC y FDN, en tanto que con PC y EM, resultó negativa; de igual manera, los FT mostraron correlación positiva con PC y ceniza y negativa con FC y FDN.

La PC reflejó una correlación positiva con ceniza y negativa con FC y FDN; de manera similar, estas dos últimas variables, se correlacionaron de forma negativa con ceniza y EM, en tanto que la degradación in situ de la MS y del N, no evidenciaron correlación con las variables estudiadas, excepto con EM, para la cual presentaron correlación positiva.

Cuadro 22. Coeficiente de correlación entre las variables estudiadas en *Gliricidia sepium*.

	TIEM	ALT	FT	TCL	TCP	TCF	TCT	PC	FC	FDN	CEN	EM	DISMS	DISN
TIEM	1.													
ALT		1.00										-0.74*	-0.77**	-0.88**
FT			1.00	-0.77**		0.70*		0.85***	-0.91***	-0.84***	0.70*			
TCL				1.00	0.74**	-0.73**	0.88***	-0.88***	0.91***	0.91***	-0.66*	-0.59*		
TCP					1.00	-0.80**	0.67*		0.59*					
TCF						1.00		0.67*	-0.79**	-0.71**				0.66*
TCT							1.00	-0.66*	0.66*	0.69*		-0.61*		
PC								1.00	-0.96***	-0.98**	0.85**			
FC									1.00	0.95***	-0.77**	-0.60*		-0.58*
FDN										1.00	-0.80**	-0.60*		
CEN											1.00			
EM												1.00	0.94***	0.73**
DISMS													1.00	0.75**
DISN														1.00

TIEM: Tiempo de rebrote, ALT: Altura de poda, FT: Fenoles Totales, TCL: Taninos Condensados Libres, TCP: Taninos Condensados adheridos a Proteína, TCF: Taninos Condensados adheridos a Fibra, TCT: Taninos Condensados Totales, PC: Proteína Cruda, FC: Fibra Cruda, FDN: Fibra Detergente Neutro, CEN: Cenizas, EM: Energía Metabolizable, DISMS: Degradación *in situ* de la Materia Seca, DISN: Degradación *in situ* de Nitrógeno.

* Significativo (P<0.05) ** Significativo (P<0.01) *** Significativo (P<0.001).

9. DISCUSIÓN

9.1 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA NUTRICIONAL.

En cuanto a las características químicas nutricionales de *Gliricidia sepium*, se observaron diferencias por efecto de la edad del rebrote y la altura de la planta, en este sentido los resultados tienden a confirmar para cada variable lo encontrado por diferentes autores, aunque es de indicar que las variables determinadas en el presente trabajo, son las más estudiadas en ésta leguminosa (Chadokar, 1982; Smith y van Hourtert, 1987)

Así, se observó que el menor contenido de MS se presentó a las 4 semanas de rebrote (17%) y los valores máximos cuando la planta fue cosechada entre las 12 y 16 semanas de rebrote (22%), inferior a lo encontrada por Gómez *et al.*, (1990) con 26% y Palma *et al.*, (1999) con 30%; los resultados obtenidos en el presente trabajo consideraron el menor tiempo de rebrote en el periodo de lluvia y el máximo tiempo de recuperación a principios del estiaje.

La concentración de PC presentó un rango de 20.6 a 24.3%, los mejores valores se obtuvieron en aquellos casos en donde la edad del rebrote y la altura de poda fueron las menores implementadas, con un efecto a disminuir por incremento de la edad de la planta y aumento de la altura de cosecha; en forma general, los resultados obtenidos tienden a ser similares a los anteriormente indicado por Smith y van Hourtert (1987) con 23%, Gómez *et al.*, (1990) con 25%, Palma *et al.*, (1999) con 24%, y Romero *et al.*, (2000) con 22%.

A pesar de existir diferencias en los resultados obtenidos, la variación en el contenido proteico no es drástica, aunque llegó a disminuir en las plantas con mayor edad, coincidiendo con lo expresado por diferentes autores (Skerman, 1977; Chadokar,

1982; Clavero y Razz, 1986; Adejumo, 1992). Es de señalar que en el presente estudio, los valores de PC corresponden a aquel material determinado como comestible (hojas y tallos menores a 4 mm de grosor).

Los valores obtenidos para FC, con niveles de 18.8 a 23.8%, indicaron la sensibilidad de la planta a cambios por efecto del tiempo de rebrote y la altura de la planta, a pesar de las combinaciones estudiadas en el presente trabajo, los resultados son parecidos a los anteriormente descritos por Reveron *et al.*, (1986) con 24%, Rao *et al.*, (1987) con 24%, Smith y van Hourtert (1987) con 21%, Norton (1994 b) con 19%, y Palma *et al.*, (1999) con 24%. El incremento en el contenido de FC con la edad del rebrote, confirma lo observado con anterioridad (Chadokar, 1982; Clavero y Razz, 1986; Adejumo, 1992).

La concentración en FDN presentó un rango de 43.5 a 49.1% con los valores más altos cuando se incrementó la edad de rebrote de la planta y el avance de la sequía, coincidiendo con Adejumo (1992). Así mismo, estos resultados en forma absoluta, fueron similares con lo obtenido por Romero *et al.*, (2000) con 43%, aunque estos autores obtuvieron una correlación negativa con respecto a la edad de la planta, tanto cuando las plantas fueron pastoreadas y no pastoreadas, estos resultados a su vez, difieren de lo observado por otros autores (Makkar *et al.*, 1991;1988; Khazaal *et al.*,1993), quienes investigaron los cambios en la composición química de distintas especies, en donde el contenido de FDN aumentó al incrementarse la maduración, sin embargo, este patrón no se presentó en todas las especies estudiadas, lo que indicó que mientras algunas especies siguen una conducta similar a los subproductos agrícolas, otras tienen un comportamiento diferente.

De igual forma, es posible que el corte de las plantas favorezca este efecto de incremento de la FDN con la edad. Sin embargo, cuando se comparó con lo señalado por Baumalin *et al.*, (1980) con 27.2%, van Eys *et al.*, (1986) con 27.9% y Praptimahyuddin (1988) con 35.0%, los valores fueron altos en relación a estos autores, debido posiblemente al tipo de material analizado, el cual pudiera estar representado

por hojas solamente y no como en el presente caso que consideró al material comestible (hojas y tallos \leq 4 mm de diámetro).

En el caso de la energía metabolizable (EM), el cálculo se hizo a partir de la ecuación propuesta por García-Trujillo (1983), se evitó utilizar el valor de EM a partir de TND, por considerar la posibilidad de sobreestimar su contenido. En el aspecto del cálculo de energía metabolizable, resalta la importancia de considerar la estimación utilizada, como se anota en los resultados de autores, como Devendra (1992), quien señaló un valor de 3.07 Mcal/kg MS en *Gliricidia*, aunque este autor no indicó la forma en que obtuvo este resultado, es alto en relación con la estimación utilizando ecuaciones diseñadas para el trópico. Sin embargo, cuando se utilizaron aquellas fórmulas desarrolladas en nuestras condiciones, como la propuesta por Demarquilly *et al.* (1978) combinada con la del ARC (1965) y la de García - Trujillo (1983), los rangos de EM se encontraron entre 2.15 a 2.51 Mcal/kg MS, fenómeno similar a lo descrito por Cáceres *et al.* (1994), para un grupo de árboles forrajeros tropicales quien señala rangos de 1.95 hasta 2.40 Mcal/kg de MS.

Así mismo, los resultados promedio obtenidos en el presente estudio se ubicaron en contenido de 2.13 Mcal/kg MS, inferior a lo indicado por varios autores (Reveron *et al.*, 1986; Rao *et al.*, 1987; Norton 1994b) con 2.24 Mcal/kg MS. Aunque cabe señalar que el contenido en EM, disminuyó con el avance de la edad de la planta y la sequía, ya que en estas condiciones, aumentaron los componentes no digeribles de la pared celular.

El efecto combinado del tiempo de rebrote y la altura de la planta se manifestó en el contenido de cenizas, con rangos de 9.6 a 10.8%, situación descrita por Chadokar (1982) con 10.0%, aunque superior a lo encontrado por Baumalin *et al.*, (1980) con 5.5%, Reveron *et al.*, (1986) con 6.3%, Rao (1987) con 6.3%, Ash (1990) con 5.9% y Robertson (1988) con 6.0%.

El contenido en calcio resultó de 1.9 a 2.2%, en este rango se encuentra lo observado por Adejumo (1992) con 2.1%, aunque resultados menores fueron indicados por Chadokar (1982) con 1.2% y Carew (1983) con 1.1%. Así mismo, se observó que el contenido en calcio disminuyó con el incremento en la edad del rebrote y la sequía, coincidiendo con Chadokar (1982); contrariamente a lo expresado por Adejumo (1992), quien no encontró diferencia en la concentración de este mineral por efecto de la fecha de cosecha y edad de la planta.

El contenido de fósforo fue de 0.16 a 0.22%, similar a lo indicado por Chadokar (1982) con 0.19%, Robertson (1988) con 0.19% y Adejumo (1992) con 0.21%, aunque inferior a lo señalado por Carew (1983) con 0.28%. En este estudio, el contenido en fósforo disminuyó con el incremento en la edad del rebrote coincidiendo con Skerman *et al.*, (1991). En contraposición con lo expresado por Chadokar (1982), quien observó aumento de P con la edad, y con Adejumo (1992) que no encontró diferencia en la concentración de este mineral por efecto de fecha de cosecha y edad de la planta, es posible que esta tendencia se deba a las demandas metabólicas de crecimiento de las plantas.

9.2 CONTENIDO EN TANINOS CONDENSADOS Y FENOLES

Los niveles de TCT encontrados en *Gliricidia sepium*, oscilaron entre 13.7 a 16.6 g/kg, inferiores a los obtenidos por Giner-Chavez (1996) con 53.3 g/kg; Jackson y Barry (1996) con 36 a 41 g/kg; y Romero *et al.*, (2000) con 31 a 46 g/kg. Las diferencias en estos valores, puede deberse al método del secado de la muestra, pues los autores antes mencionados utilizaron el proceso de liofilización, en tanto que en el presente trabajo, las muestras se deshidrataron en horno a 60°C.

Este aspecto fue discutido por Terrill *et al.*, (1990; 1994) y Cano *et al.* (1994), quienes afirmaron que con la liofilización se obtienen niveles más altos de taninos condensados, comparados con el secado al horno o la congelación; sin embargo, la liofilización es cara y no siempre accesible. En estos casos, puede utilizarse horno a

temperatura de 40 a 60°C para evitar la oxidación enzimática y la polimerización (Valerio-Chaves, 1994)..,

Por otra parte, es factible que la modificación en la concentración de taninos pueda deberse al manejo, como sería la forma y el tiempo de transportar la muestra del campo al laboratorio, método de conservación y otros factores.

Con estos niveles, *Gliricidia sepium* puede ser considerada como una de las leguminosas tropicales con menor contenido de taninos condensados, en comparación con otras como *Leucaena leucocephala* con 60.3 g/kg (Jackson *et al.*, 1996), *Flemingia macrophylla* con 388 g/kg (Cano *et al.* 1994), *Desmodium ovalifolium* con un contenido de 237.5 g/kg, *Acacia mangium* con 100.4 g/kg y *Callyandra* sp con 194.3 g/kg (Jackson y Barry, 1996), entre otras.

Existen diferentes trabajos que indican la concentración de taninos, sin embargo, estos hacen referencia a fenoles totales (Reed *et al.*, 1985; Lowry y Sumpter, 1990; Campbell y Fuchshuber, 1995), concentración de ácido tánico (Valerio-Chaves, 1994) o taninos condensados totales o extractables (Price y Butler, 1977; Reed *et al.*, 1982; Hagerman, 1983; Rickard, 1986; Cano *et al.*, 1994; Terrill *et al.*, 1994). Pocos son los trabajos en donde se hace un fraccionamiento de este metabolito (Terrill, 1992; Jackson y Barry, 1996; Romero *et al.*, 2000) como en el presente trabajo. En este aspecto, al caracterizar el tipo de taninos encontrados en *Gliricidia sepium*, se observó una mayor afinidad a las proteínas, representando el 46% del total; esto confirma lo determinado por Hagerman y Klucher, 1986; Barry, 1989; Reed, 1995 y Romero *et al.*, 2000.

Otro factor de variación, fue el tipo de análisis utilizado en la cuantificación de dichos compuestos. En este contexto, Terrill *et al.*, 1992; Makkar *et al.*, 1993, Cano *et al.*, 1994 y Jackson y Barry, 1996; resaltaron la importancia del tipo de preparación de las muestras para poder obtener una mejor extracción de taninos, así como la utilización de los métodos adecuados de cuantificación.

La actividad de los taninos en la nutrición de rumiantes no siempre es igual, la respuesta dependerá de la concentración de este metabolito en la planta, por lo cual, se observan efectos tanto benéficos como adversos.

Entre los resultados negativos se puede considerar una disminución en la digestibilidad de la PC y de la FC (Reed *et al.*, 1990) y en menor proporción también del almidón (Muller-Harvey y McAllan, 1992). Por otra parte, los efectos favorables se relacionan con la protección de la proteína y su paso posterior para su digestión en abomaso (Barry, 1989). El efecto específico dependerá de la interacción entre el contenido y las características del tanino: el tipo, el tamaño molecular y la configuración, entre otros (Hagerman *et al.*, 1992).

En años recientes, se presta mayor atención a diferentes factores que afectan la concentración de taninos, entre ellos destacan: el clima, la nutrición mineral, el crecimiento de la planta y la composición química en la síntesis de los compuestos fenólicos (Waterman y Mole, 1994). Situación estudiada en el presente caso, en donde la edad del rebrote de plantas, influyó en el aumento de la concentración de TCL, TCP y TCT.

Por otra parte Makkar *et al.*, (1991), indicaron que el estado de maduración o edad de la planta aumenta el nivel de taninos condensados y disminuye el de fenoles totales, coincidiendo con lo observado en este estudio, en el que además, el incremento en la altura de poda reflejó un efecto similar sobre estas variables.

Los niveles encontrados para taninos adheridos a fibra (TCF) oscilan entre 3 a 6 g/kg, coincidiendo con los valores expresados por Jackson y Barry (1996) con 3 g/kg y Romero *et al.* (2000), con 3 a 8 g/kg, observándose además en este estudio, una relación inversa entre la edad del rebrote y el contenido en esta clase de taninos.

9.3 DEGRADACIÓN *in situ* DE LA MATERIA SECA Y NITRÓGENO

El valor de degradación total de la MS a las 48 horas, obtenido en los diferentes tratamientos de altura (67 a 69%), fue similar a lo indicado por otros autores (Preston y Leng, 1989; Ash, 1990; Kabaija, 1985), e inferiores a lo encontrado (73%) por Roskoski *et al.*, (1980), quienes indicaron el uso de la técnica de la bolsa de nylon para cuantificar esta variable, fenómeno que demuestra la gran disponibilidad de los nutrimentos de esta planta al ser digeridos por los rumiantes.

Así mismo, esta tendencia se mantiene en aquellos casos en donde se utilizó la técnica *in vitro* (Romero *et al.*, 2000; Roskoski *et al.*, 1980; Clavero y Razz (1986); Adejumo, 1992; Carew, 1983), aunque es de señalar que otros autores indicaron valores inferiores (55 a 63%) al utilizar esta técnica *in vitro*, aunque se desconocen las características del material analizado, es de señalar el efecto de la edad en el material evaluado, fenómeno discutido por Falvey (1982), cuando comparó las hojas jóvenes contra las hojas viejas de esta leguminosa arbórea; similar tendencia fue indicada por Kabaija (1985), pero el consideró la edad del material en semanas, comparó 6 contra 12 semanas de rebrote. Este último efecto, aunque fue estudiado en el presente trabajo, no fue uno de los efectos estadísticamente significativo, por lo cual, resultado diferente a lo indicado por este último autor. Por otro parte, al comparar la tasa de degradación ruminal, ésta resultó menor a lo señalado por Ash (1990), quien indicó un valor de 10.5%/h comparado con 7.84%/h para el presente estudio.

Los resultados de desaparición en rumen del nitrógeno (57 a 62%), coinciden con lo encontrado por Ahn *et al.*, (1997) y Mpaiwe *et al.*, (1998) en muestras secadas en horno (51 a 64%), e inferiores a los observados por Ahn *et al.*, (1989) en hojas liofilizadas (84%), es posible que se deba a que una proporción del nitrógeno no proteico que contiene *Gliricidia sepium* (Pezo *et al.*, 1989; Miquelena *et al.*, 1995), se pierda al utilizar técnicas de secado por calor, con lo que se pudiera explicar la diferencia en los valores indicados.

10. CONCLUSIONES

- El contenido en nutrimentos y taninos condensados del follaje de *Gliricidia sepium* fue afectado por la edad del rebrote, la altura de poda y la interacción de ambos factores.
- Los taninos condensados adheridos a proteína, se presentaron en mayor proporción que otras clases de taninos, demostrando su afinidad por este nutrimento.
- Los fenoles totales disminuyeron por efecto del incremento de la edad del rebrote y la altura de poda
- La degradación *in situ* de la materia seca y del nitrógeno, disminuyó por efecto de la altura de poda y presentó correlación positiva con el contenido en energía metabolizable.
- Por el bajo contenido en taninos condensados, alto valor proteico y elevada degradación de las hojas de *Gliricidia sepium*, esta arbórea representa una alternativa de alimentación para rumiantes en el trópico seco.

11. LITERATURA CITADA

- Adejumo, J.O. 1992. Effect of plant age and harvest date in season on yield and quality of *Gliricidia sepium* in Southern, Nigeria. *Tropical Grasslands*. 26:21-24.
- Andersen, R.A. y J.R. Todd. 1968. Estimation of total tobacco plant phenols by their bonding to polyvinylpyrrolidone. *Tobacco Sci.* 12:107-112.
- Anh, J.H., B.M. Robertson, R. Elliot, R.C. Guteridge y C.W. Ford. 1989. Quality assessment of tropical browse legumes: tannin content and protein degradation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 27:147-156.
- Anh, J.H., R. Elliot y B.N. Norton. 1997. Oven drying improves the nutritional value of *Calliandra calothyrsus* and *Gliricidia sepium* as supplements for sheep given low-quality straw. *J. Sci. Food Agric.* 75:503-510.
- AOAC. 1980. Official methods of analysis (13th Ed.). Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C. USA.
- AOAC, 1984. Official methods of analysis (14th Ed.). Association of Official Analytical Chemists. Arlington, USA.
- ARC. 1965. The nutritive requirement of farm livestock. No. 2. Ruminants. Technical reviews and summaries. ARC. London.
- Ash, A.J. 1990. The effect of supplementation with leaves from the leguminous trees *Sesbainia g.*, *Albizia chinensis* y *Gliricidia s.*, on the intake and digestibility of guinea grass by goats. *Anim. Feed Sci. Technol.* 28:225-232.
- Aufrere, J., D. Graviou, C. Demarquilly, B. Michelet-Doreau, R. Verite y P. Chapoutot. 1991. Predicting *in situ* degradability of feed proteins in rumen by two laboratory methods (solubility and enzymatic degradation). *Anim. Feed Sci. Technol.* 33:97-116.
- Barnes, D.K. 1973. Laboratory methods of evaluating feeding value of herbage. En: Chemistry and biochemistry of herbage. Editores: G. W. BUTLER y r. w. Bailey. Academic Press. New York. USA.
- Barry, T.N. 1985. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pendunculatus* for sheep 3. Rates of body and wool growth. *Br. J. Nutr.* 54:211-217.
- Barry, T.N. 1989. Condensed tannins: their role in ruminant protein and carbohydratae digestion and possible effects upon the rumen ecosystem. En: The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion. Editores: J. V. Nolan, R. A. Leng y D. I. Demeyer. Penambul Books. Armidale, NSW. pp 153-169.
- Barry, T.N. y S.J. Duncan. 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pendunculatus* 1. Voluntary intake. *Br. J. Nutr.* 51:485-481.
- Barry, T.N. y T.R. Manley. 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pendunculatus* for sheep. 2. Quantitative digestion of carbohydrates and protein. *Br. J. Nutr.* 51: 493-504.

- Bate-Smith, E.C. 1973. Tannins in herbaceous leguminosae. *Phytochemistry* 12:1809-1812.
- Bate-Smith, E.C. 1975. Phytochemistry of proanthocyanidins. *Phytochemistry* 14:1107-1113.
- Bamualin, A., R. J. Jones y R.M. Murray. 1980. Nutritive value of tropical browse legumes in the dry season: Proceedings of the Australian Society of Animal Production. 13:229-232.
- Bhargava, P.K. y R.E. Ørskov. 1987. Manual for the use of nylon bag technique in the evaluation of feedstuffs. FEEDS. The Rowett Research Institute. Buckburn, Aberdeen, Scotland.
- Borel, R. 1990. Aspectos críticos de las metodologías de evaluación nutritiva de árboles y arbustos forrajeros. En: Nutrición de rumiantes. Guía metodológica de investigación. ALPA, IICA-RISPAL. San José, Costa Rica. pp 21-31.
- Brewbaker, J.L. 1986. Leguminous trees and shrubs for Southeast Asia and the South Pacific. En: Forages in Southeast Asian and Sout Pacific Agriculture. Editores: G.J. Balir, D.A. Ivory y T.R. Evans. ACIAR Proceedings No.12 ACIAR, Canberra. pp 43-50.
- Broadhurst, R.B., y W.T. Jones. 1978. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *J. Sci. Food Agric.* 29:788-794.
- Burton, G.W., R.H. Hart y R.S. Lowrey. 1967. Improving forage quality in Bermuda grass by breeding. *Crop Sci.* 7:329-332.
- Buttler, L.G.1992. Antinutritional effects of condensed and hydrolysable tannins. En: Plant poliphenols: syntesis, properties, significance. Editores: R. W. Hemingway y P. E. Laks. Plenum Press. NY, USA. pp 693-698.
- Cáceres O., E. González y R: Delgado. 1994. Valor nutritivo de los árboles forrajeros tropicales. Resúmenes. Taller Internacional: Sistemas Silvopastoriles en la Producción Ganadera. EEPF. Indio Hatuey. Matanzas, Cuba. p. 30.
- Calle, J., A. Rivera y P. Joseph-Nathan. 1987. Pinitol from leaves of *Gliricidia sepium*. *Planta Médica* 53:303-307.
- Campbell, I.C. y L. Fuchshuber. 1995. Poliphenols, condensed tannins and processing rates of tropical and temperate leaves in Australian stream. *J.N. Am. Benthol. Soc.* 14:174-182.
- Cano, R., J. Carulla, C. Lascano.1994. Métodos de conservación de muestras de forraje de leguminosas tropicales y su efecto en el nivel y en la actividad biológica de los taninos. *Pasturas Tropicales.* 16:2-7.
- Carew. B.A.R. 1983. *Gliricidia sepium* a sole feed for small ruminants. Technical notes. Ibadan, Nigeria. International Livestock Center for Africa.
- Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). 1986. Silvicultura de especies promisorias para producción de leña en América Central. CATIE. Turrialba, Costa Rica. pp 145-148.
- Centro de Investigación, Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical (CIEEGT). 1989/1990 Boletín anual. UNAM, México.

- Cervantes, N. 1988. Fonctionnement des élevages bovins mixtes, en milieu tropical Mexican (Etat de Colima). Tesis Doctoral. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Academie de Montpellier. Francia.
- Chadokar, P.A.1982. *Gliricidia maculata*: a promising legume fodder plant. *World Anim. Rev.* 44:36-46.
- Clavero T. y R. Razz. 1986. Valor nutritivo de la *Gliricidia sepium* en condiciones de bosque tropical. Taller Internacional: Los árboles en los sistemas de producción ganadera. Noviembre. Matanzas, Cuba.
- Demarquilly, C., A. Xande y M. Chenost. 1978. Composition et valeur nutritive des fourrages tropicaux. En: Alimentation des ruminants. INRA. Versailles, Francia.
- Devendra, C. 1990. The use of shrubs and tree fodders by ruminants. En: Shrubs and trees fodders for farm animals. Proceedings of a workshop in Denpasar, Indonesia. International Development Research Centre. Ottawa, Canadá.
- Devendra, C. 1992. Nutritional potential of fodder trees and shrubs as protein sources in ruminant nutrition. En: Legume trees as protein sources for livestock. Editores: A. Speedy y P.L. Pugliese. FAO. Animal Production and Health. Paper 103. p. 95.
- Dollahite, J.W., R.F. Pigeon y B.J. Camp. 1962. The toxicity of gallic acid, pyrogallol, tanic acid and *Quercus havardi* in the rabbit. *Am. J. Vet. Res.* 23:1265-1267.
- Eagan, A.R. y M.J. Ulyatt. 1980. Quantitative digestion of fresh herbage by Sheep. Utilization of nitrogen in five herbages. *J. Agric. Sci.* 94:47-56.
- Escobar, A., E. Romero y A. Ojeda.1996. El mala ratón. *Gliricidia sepium*, un árbol multipropósitos. Fundación Polar. Universidad Central de Venezuela. p. 78.
- Everist, S. 1986. Use of fodder trees and shrubs. Brisbane, Queensland, Australia.
- Falvey, J.L. 1982. *Gliricidia maculata* – a review. *Tree Crops.* 2:1-14.
- FAO. 1991. Report: Expert consultation on legumes trees and other fodder trees as protein source for livestock. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Febles, G., T. Ruíz, H. Díaz, y L. Lucas. 1993. Utilización de los árboles y arbustos en la ganadería. 1er Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica. Cuba. pp 47-48.
- Febles, G., T. Ruíz y L. Simón. 1990. Utilización de los árboles y arbustos en la ganadería. Memorias XXV Aniversario del Instituto de Ciencia Animal. Cuba. pp 194-203.
- Feuchl, W. D., D. Treutter y E. Christ. 1992. Localization and quatitative detemination of catechins and proanthocyanidins in the pholem of elm and cherry. *Tree Physiology.* 10:169-177.
- Filippich, L.J., J. Zhu y M.T. Alsami. 1991. Hepatotoxic and nefrotoxic principles In *Terminalia oblongata* *Res. Vet. Sci.* 50:170-174.
- Folin, O. y V. Ciocalteu. 1927. On tyrosine and tryptophane detemination in proteins. *J. Biol. Chem.* 27:627-650.

- García-Trujillo, R. 1983. Estudios en la aplicación de sistemas de expresión del valor nutritivo de los forrajes en Cuba y métodos de racionamiento. Tesis Dr. Cs. Veterinarias. ISCAH. La Habana, Cuba.
- Giner-Chávez, B.I. 1996. Condensed tannins in tropical forages. Ph. D. Thesis. Cornell University, Ithaca, NY, USA.
- Goldstein, J.L. y T. Swain. 1963. Changes in tannins in ripening fruits. *Phytochemistry*. 2:371-383.
- Gómez, M.E., C.H. Molina, E.J. Molina y E. Murgueitio. 1990. Biomass production by six ecotypes of matarratón (*Gliricida sepium*). *Livestock Research for Rural Development*. 2:10-18.
- Griffiths, L.A. 1962. On the co-occurrence of coumarin, O-coumarin acid and meliolic acid in *Gliricidia sepium*. *J. Exp. Bot.* 13:169-175.
- Gutteridge, R.C. y H.M. Shelton. 1994. The role of forage tree legumes in cropping and grazing systems. En: Forage tree legumes in tropical agriculture. Editores: R.C. Gutteridge y H.M. Shelton. CAB International, Queensland, Australia. pp 3-11.
- Hagerman, A.E. 1983. Extraction of tannin from fresh and preserved leaves. *J. Chem. Ecol.* 14:453-461.
- Hagerman, A.E. 1987. Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. *J. Chem. Ecol.* 13:437- 449.
- Hagerman, A.E. y L.G. Butler. 1981. The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. *J. Biol. Chem.* 256:4494-4497.
- Hagerman, A.E. y K.M. Klucher. 1986. Tannin-protein interaction. En: Plant flavanoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationships. Editores: V. Cody, E. Middleton, J. Harborne y R. Alan. Liss, New York. Pp 67-76.
- Hagerman, A.E., C.T. Robbins, Y. Weerasuriya, T.C. Wilson y C. McArthur. 1992. Tannin chemistry en relationto digestion. *J. Range Manage.* 45:57-62.
- Harborne, J.B. 1989. Plant-animal interactions. En: Recent advances in chemical ecology. Natural Product Reports. pp 92-96.
- Haslam, E. 1989. Plant polyphenols-vegetable tannins revisited. Cambridge University Press. Cambridge, U K.
- Heller, W., y G. Forkman. 1988. Biosynthesis, En: The flavanoides advances in research since 1980. Editor: J.B.Harborne. Chapman and Hall, NY, USA.
- Holliman, A. 1985. A corn poisoning in ruminants. *Vet. Rec.* 116:546-550.
- Horvath, P.J. 1981. The nutritional and ecological significance of Acer-tannins and related polyphenols. M. Sci. Thesis. Cornell University, Ithacca, N.Y. USA.
- Huntington, J.A. y D.J. Givens. 1995. The *in situ* technique for studying the rumen degradation of feed. A review of the procedure. *Nut. Abstr. Rev.* 67:63-93.
- Jackson, F.S. y T.N. Barry. 1996. The extractable and bound condensed tannin content of leaves from tropical tree, shrub and forage legumes. *J. Sci. Food Agric.* 71:103-110.

- Jones, G.A., T.A. Mc Allister, A.D. Muir y K.J. Cheng. 1994. Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:1374-1382.
- Jones, R.J. 1994. Management of anti-nutritive factors-with special reference to Leucaena. En: Forage tree legumes in tropical agriculture. Editores: R.C. Gutteridge y H.M. Shelton. CAB International. Queensland, Australia. pp 17-231.
- Jones, W.T. y J.L. Mangan. 1977. Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop) with fraction I leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *J. Sci. Food Agric.* 28:126-136.
- Kabajja, E. 1985. Factors influencing mineral content and utilization of tropical forages by ruminants. Ph. D.Thesis University of Ife. Ile-Ife, Nigeria.
- Khazaal, K., X. Markantonatos, A. Nastis y E.R. Ørskov. 1993. Changes with maturity in fibre composition and levels of extractable polyphenols in Greek browse: effects on *in vitro* gas production and *in sacco* dry matter degradation. *J. Sci. Food Agric.* 63:237-244.
- Kumar, R. 1992. Anti-nutritional factors, the potencial risk of toxicity and methods to alleviate them. En: Legume trees and other fodder trees as protein sources for livestock. FAO. Rome, Italy. pp 145-160.
- Kumar, R., y M. Singh. 1984. Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. *J. Agric. Food Chem.* 32:447-453.
- Kumar, R., y S. Vaithiyanathan. 1990. Occurence, nutritional significance and effect on animal of tannins in tree leaves. *Anim. Feed Sci. Technol.* 30:21-28.
- Lana, K., I. M. Nitis, S. Putra, M. Svarna y W. Sukanten. 1989. Feeding behaviour of Bali cattle feed *Gliricidia* diet. XVI International Grassland Congress. Nice, France. pp 801-802.
- Le Houréou, H.N. 1980. Chemical composition and nutritive value of browse in West África. En: Browse in África. Editor: H. N. Le Houréou. International Livestock Centre for África. Addis Ababa, Ethiopia. pp 261-290.
- López, S., J. France y M.S. Dhanoa. 1995. Correction for particulate matter loss when applying the polyester-bag method. *Brit. J. Nutr.* 71:135-137.
- Lowry, J.B. y E.A. Sumpter. 1990. Problems with ytterbium precipitation as a method for determination of plant phenolics. *J. Sci. Food Agric.* 52:287-290.
- Makkar, H.P.S., M. Blummel, N.K. Borowhy y K. Becker. 1993. Gravimetric determination of tanins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *J. Sci. Food Agric.* 61:161.
- Makkar, H.P.S., R.K. Dawra y B. Singh. 1988. Changes in tannin content, polymerization and protein precipitation capacity in Oak (*Quercus incana*) leaves with maturity. *J. Sci. Food Agric.* 44:301-307.
- Makkar, H.P.S., R.K. Dawra y B. Singh. 1991. Tannin levels in leaves of some oak species at different stages of maturity. *J. Sci. Food Agric.* 54:513-519.
- Manidool, C. 1985. Utilization of tree legumes crop residues a animal feeds in Thailand. En: Relevance of crops residues as animal feeds in developing countries. International workshop, Khon, Kaen. Thailand. pp 249-269.
- Mangan, J.L. 1988. Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutr. Res. Rev.* 1:209-231.
- Martínez, M., 1979. Plantas mexicanas. Catálogo de nombres vulgares y científicos. Fondo de Cultura Económica. México. pp 1122.
- McQueen, R.E., R.S. Bush y J.W.G. Nicholson. 1980. Variability of forage digestion in nylon bags suspended in the rumen. Proceedings of a meeting held in Alberta, Canadá.
- McLeord, M.N. 1974. Plant tannins: their role in forage quality. *Nutr. Abst. Rev.* 44:803-812.

- McVaugh, R. 1987. Flora Novo-Galiciana. Leguminosae. A descriptive account of the vascular plants of Western México. Editor: William R. Anderson. The University of Michigan Press. p 533.
- Mertens, D.R. 1993. Rate and extent of digestion. En: Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. Editores: J. M. Forbes y J. France. J. CAB International.
- Minson, D.J y M.P. Hegarty. 1984. Toxic factors in tropical legumes. En: Forage legumes for energy-efficient animal production. Editores: R. Barnes, P.R. Ball, R. W. Broughman, G. C. Marten y D. J. Minson. USA Agricultural Research Service. Palmerston North, Nueva Zelanda. pp 246-250.
- Miquilena, E.L., O.J. Ferrer y T. Clavero. 1995. Efecto de tres frecuencias de corte y dos densidades de siembra sobre las fracciones nitrogenadas en hojas y tallos de *Gliricidia sepium*. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 12:193-207.
- Mole, S., L.G. Butler y G. Iason. 1990. Defense against dietary tannin in herbivores: a survey for proline rich salivary proteins in mammals. *Biochemical Systematics and Ecology*. 18: 287-293.
- Mole, S., J.A.M. Ross y P.G. Waterman. 1988. Light-induced variation in phenolic leaves in foliage of rain forest plants. 1. Chemical changes. *J. Chem. Ecol.* 11:1327-1332.
- Montilla, J.J., A. García y A.R. Reveron. 1973. Valor pigmentante de diversos taninos verdes agregados a las raciones para pollos de engorda y su efecto sobre el incremento de peso. *Ciencias Veterinarias*. 2:285-292.
- Montilla, J.J., A. R. Reveron. B. Schmidt, H. Widenhofer y P. Castillo. 1974. La harina de follaje de rabo ratón (*Gliricidia sepium*) en raciones para ponedoras. *Agronomía Tropical*. 6:505-511.
- Mpairwe, D.R., E.N. Sabiti y J.S. Mugerwa. 1998. Effect of dried *Gliricidia sepium* leaf supplement on feed intake, digestibility and nitrogen retention in sheep fed dried KW4 elephant grass (*Pennisetum purpureum*) *ad libitum*. *Agroforestry Sys.* 41:139-150.
- Mueller-Harvey, I. y A.B. Mc Allan. 1992. Tannins: their biochemistry and nutritional properties. En: Advances in plant cell biochemistry and biotechnology. Editor: M. Morrison. JAI Press Ltd. London. pp 151-217.
- Mueller-Harvey, I., A.B. McAllan, M.K. Theodorou y D.E. Beever. 1988. Phenolics in fibrous crop residues and their effects on the digestion and utilization of carbohydrates and proteins in ruminants. En: Plant breeding and the nutritive value of crop residues. Editores: J. D. Reed, B. S. Capper y P. J. H. Neate. ILCA. Addis Ababa. Ethiopia. pp 97-132.
- NAS. 1979. Tropical Legumes: Resources for the future. National Academy Press. Washington, D.C., USA.
- NAS. 1984. Especies para leña. Arbustos y árboles para la producción de energía. National Academy of Sciences, Washington, D.C, USA. pp 84-85.
- Neathery, N.W. 1968. Dry matter disappearance of roughages in nylon bags suspended in the rumen. *J. Dairy Sci.* 52:74-78.
- Nitrogen Fixing Tree Association (NFTA). 1989. *Gliricidia*: production and use. Walmanalo, Hawaii, USA. pp 1-3.
- Nocek, J.E. 1985. Evaluation of specific variables affecting *in situ* estimates of ruminal dry matter and protein digestion. *J. Anim. Sci.* 60:1347-1355.
- Nochebuena, G., y P.B. O'Donovan. 1986. The nutritional value of high-protein forage from *Gliricidia sepium*. *World Anim. Rev.* 57:48-49.
- Norton, B.W. 1994a. Anti-nutritive and toxic factors in forage tree legumes. En: Forage tree legumes in tropical agriculture. Editores: R. C. Gutteridge y H. M. Shelton. CAB International, Queensland, Australia. pp 202-215.
- Norton, B.W. 1994b. The nutritive value of tree legumes. En: Forage tree legumes in tropical agriculture. Editores: R. C. Gutteridge y H. M. Shelton. CAB International, Queensland, Australia. pp 177-191.

- Oh, H.I., J.E. Hoff, G.S. Armstrong y L.A. Haff. 1980. Hydrophobic interaction in tannin-protein complexes. *J. Agric. Food Chem.* 28:394-498.
- Onwuka, C.F.J. 1992. Tannin and saponin contents of some tropical browse species feed to goats. *Trop. Agric.* 69:176-180.
- Ørskov, E.R., F. Howell, D. Deb y F. Mould. 1980. Use of nylon bag technique in the evaluation of feedstuffs. *Prod. Anim. Trop.* 5:213-233.
- Ørskov, E.R., e I. Mc Donald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci., Camb.* 92:499-503.
- Ortiz, L., C. Centeno y J. Treviño. 1993. Tannins in faba beans seeds: effects on the digestion of protein and amino acid in growing chicks. *Anim. Feed Sci. Technol.* 41: 271-278.
- Osei, S.A., R.S. Opoku y C.C. Atuahene. 1990. *Gliricidia* leaf meal as an ingredient in layer diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 29:303-308.
- Palma, J.M. 1993. Leguminosas arbóreas, recurso potencial para la alimentación animal en el trópico. Curso Agrotecnia, Ecología y Pastoreo de Rumiantes en los Trópicos. FESC-UNAM. Estado de México. México. pp 123-124.
- Palma, J.M., M. Aguirre C. Cárdenas y A. Moya. 1999. Valor nutritivo de tres arbóreas en el trópico seco de México. *Pastos y Forrajes.* 22:57-63.
- Palma, J.M., J. Pérez-Guerrero, M. Galina e I. Galindo. 1997. Efecto de la altura y fecha de poda en la producción forrajera de *Gliricidia sepium*. *Revista Cubana Ciencia agrícola.* 31:97-103.
- Pandey, R.K. y H.P.S. Makkar. 1991. Variation of tannin in oak leaves. *Biochemte und Physiologie der Pflanzen.* 187:392-394.
- Parham, R.A. y H.M. Kaustinen. 1977. On the site of tannins synthesis in plant cells. *Bot. Gaz.* 138:465-467.
- Pedraza, R. y S. Martínez. 1993. Influencia de los días de rebrote sobre el rendimiento y composición mineral del follaje de postes de piñón (*Gliricidia sepium*). Taller internacional papel de los pastos y forrajes en la ganadería de bajos insumos. EEPF Matanzas, Cuba. p.16.
- Pedraza, R. y M. Nery. 1992. Rendimiento y valor nutritivo del follaje del piñón (*Gliricidia sepium*) a los 60 días de rebrote. IX Seminario Científico Nacional y 1 Hispanoamericano de Pastos y Forrajes. EEPF Matanzas, Cuba. p. 140.
- Peerdock, A.B., M. Thaamoatham, J.J. Blum, H. Van DenBorn y C. Van Velun. 1982. Practical experiences with urea ensiled straw in Sri Lanka. En: Maximum livestock production from Minimum land. Editores: T. R. Preston, C. Davis, F. Dolberg, M. Haque y M. Saadullah. Bangladesh Agricultural University and BARC. Dacca.
- Pérez-Guerrero, J. 1990. Propuesta para el desarrollo de la ganadería tropical para el estado de Colima. FIRA. Colima, México.
- Perry, D.L. y D.L. Jumars. 1987. Modeling animal guts as chemical reactors. *The América Naturalist.* 129:69-96.
- Pezo, D., J. Kass, J. Benavides, F. Romero y C. Chávez. 1989. Potential of legume tree fodders as animal feed in Central América. En: Shrubs and tree fodders for farm animals. Editor: C. Devendra. International Development Research Centre (IDRC). Ottawa, Canada. 163-175.

- Praptimahyuddin, D., A. Little y J.B. Lowry. 1988. Drying treatment drastically affects feed evaluation and feed quality with certain tropical forage species. *Anim. Feed Sci. Technol.* 27:147-156.
- Preston, T.R. y R.A. Leng. 1989. Adecuando los sistemas de producción pecuaria a los recursos disponibles: aspectos básicos y aplicados del nuevo enfoque sobre la nutrición de rumiantes en el trópico. Consultorías para el desarrollo rural integrado en el trópico (CONDRIT). Cali, Colombia. p.160.
- Price, M.L. y L.G. Butler. 1977. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.* 25:1268-1273.
- Rajaram, N., y K. Janardhanan. 1991. Chemical composition and nutritional potencial of the tribal pulses *Bahulinia purpurea*, *B. racemosa* and *B. vahlii*. *J. Sci. Food Agric.* 55:423-431.
- Rao, B.V., M. Parthasavathy y N. Krishna. 1993. Effect of supplementation with tree leaves on intake and digestibility of hibrid napter (NB-21) grass in Nellore Brown sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 44:265-274.
- Rao, K.S., M.R. Reddy y G.V. Reddy. 1987. Utilization of unconventional roughages by the rabbits. *Indian J. Anim. Sci.* 57: 1324-1328.
- Reed, J.D. 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *J. Anim. Sci.* 73:1516-1528.
- Reed, J.D., P.J. Horvath, M. S. Allen y P. J. Van Soest. 1985. Gravimetric determination of soluble phenolics including tannins from leaves by precipitation with trivalent ytterbium. *J. Sci. Food Agric.* 36:255- 261.
- Reed, J.D., R.E. Mc Dowell, P.J. Van Soest y P.J. Horvath 1982. Condensed tannins: A factor limiting the use of cassava forage. *J. Sci. Food Agric.* 33:213-220.
- Reed, J.D., H. Soller y A. Woodward. 1990. Fodder tree and straw diets for sheep: intake, growth, digestibility and the effects of phenolic on nitrogen utilization. *Anim. Feed Sci. Technol.* 30:39-49.
- Reveron, A.E., J. Rodriguez, y J. Montilla. 1986. Potential of *Gliricidia sepium* in animal feeding. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Venezuela.* 35:193-203.
- Rickard, J.E. 1986. Tannin levels in Casava, a comparision of methods of analysis. *J. Sci. Food Agric.* 37:37-42.
- Robbins, C.T., T.A. Hanley, A.E. Hagerman, O. Hjeljord, D.L. Baker, C.C. Schwartz y W.W. Mautz. 1987. Role of tannins in defending plants against ruminants: reduction in protein availability. *Ecology.* 68:98-107.
- Robertson, B.M. 1988. The nutritive value of five browse legumes feed as supplements to goats offered a basal rice straw diet. Master of Agricultural Studies Thesis. The University of Queensland.
- Romero, F. 1990. Utilización de la técnica de digestión *in situ* para la caracterización de forrajes. En: Nutrición de rumiantes. Guía metodológica de investigación. Editores: M. E. Ruiz y A. Ruiz ALPA-RISCAL-IICA. San José, Costa Rica. pp 105-114.
- Romero, F., L. Camero, L. Sanchez, J. Montenegro y C. Chana. 1990. Proyecto sistemas silvopastoriles. Informe IX Reunión General RISPAL. IICA/RISPAL. San José, Costa Rica. pp 135-162.

- Romero, C.E., J.M. Palma, J. López. 2000. The influence of grazing on the concentration of total phenols and condensed tannins in *Gliricidia sepium* in the dry tropics. *Livestock Research Rural Development* (en prensa).
- Roskoski, J.P., G.C. González, M.J.F. Dias, G.P. Tejada y A. Vargas. 1980. Woody tropical legumes: potential sources of forage, fire-wood and soil enrichment. En: SERI: Tree crops for energy co-production on farms. SERI/CP- 622-1086. USGPO. Washington. pp 135-155.
- Salcedo, M. J. 1995. Digestibilidad *in situ*, un método para describir la tasa y extensión de digestión de los rumiantes. Memorias del curso: Dinámica de digestión ruminal. FAO. Red Regional de Producción Lechera. Santiago de Chile. Chile.
- Scalbert, A. 1991. Antimicrobial propeties of tannins. *Phytochemistry*. 30:3875-3883.
- Sentheshannuganathan, S. y S. Duran. 1969. Isolation and composition of proteins from leaves of plants grown in Ceylan. *J. Sci. Food Agric*. 20:603-608.
- Shelton, H.M., J. B.Lourry, R.C. Gutteridge, R.A. Bray, y J.H. Wildin. 1991. Sustaining productive pastures in the tropics. Tree and shrub legumes in improved pastures. *Tropical Grasslands* 22:119-128.
- Simons, A.J. y J.L. Stewart. 1994. *Gliricidia sepium* a multipurpose forage tree legume. En: Forage tree legumes in tropical agriculture. Editores: R. C. Gutteridge y H. M. Shelton. CAB International, Queensland, Australia. pp 30-48.
- Singleton, V.L. y J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticul*. 16:144-158.
- Skerman, P.J., D.G. Cameron y F. Riveros. 1991. 14. Leguminosas pratenses tropicales. En: Leguminosas forrajeras tropicales. FAO, Roma, Italia.
- Smith, O.B. y M.F.J. van Houtert. 1987. The Feeding value of *Gliricidia sepium*. A review. *World Anim. Rev.* 62:57-68.
- Sotelo, A. 1981. Leguminosas silvestres, reserva de proteínas para la alimentación del futuro. *Información Científica y Tecnológica*. 3:28-32.
- Sotelo, A., B. Lucas, F. Blanc y F. Giral. 1986. Chemical composition of seed of *Gliricidia sepium*. *Nutrition Reports International*. 34:315-322.
- Sriskandarajah, N. 1987. Forage yield from *Gliricidia sepium* in Papua New Guinea. *Nitrogen Fixing Tree Research Reports*. 5: 49-50.
- Stafford, H.A. 1988. Proanthocyanidins and the lignin connection. *Phytochemistry*. 27:1-6.
- Stafford, H.A. y T.Y. Cheng. 1980. The procyanidins of Douglas fir seedlings, callus and cell suspension culture derived from cotyledons. *Phytochemistry*. 19:131-137.
- Swain, T. 1979. Tannins and lignins. En: Herbivores, Their Interaction with Secondary Plant Metabolites. Editores: G.A. Rosenthal y D.H. Jansen. Academic Press, New York, USA. pp 657-682.
- Takhtajan, A. 1987. System magnoliophytorum. Oficina editora "Nauka". Sectio Leninopolitana. Lenilpopoli. Rusia.

- Terrill, T.H., A.M. Rowan, G.B. Douglas y T.N. Barry. 1992. Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *J. Sci. Food Agric.* 58:321-329.
- Terrill, T.H., W.R. Windham, J.J. Evans y C.S. Hoveland. 1990. Condensed tannin concentration in *Sericea lezpedeza* as influenced by preservation method. *Crop Sci.* 30:219-224.
- Terrill, T.H., W.R. Windham, J.J. Evans y C.S. Hoveland. 1994. Effect of drying method and condensed tannin on detergent fiber analysis of *Sericea lezpedeza*. *J. Sci. Food Agric.* 66:337-343.
- Tilley, J.A. y R.A. Terry. 1963. A two stage technique for the in vivo digestion of forage crops. *J. Brit. Grassland Soc.* 18:104-111.
- Tjandratmadja, M., I.C. MacRae y B.W. Norton. 1993. Effect of inclusion of tropical tree legumes, *Gliricidia sepium* and *Leucaena leucocephala* on the nutritive value of silages prepared from tropical grasses. *J. Agri. Sci.* 120:397-406.
- Treviño, J., L. Ortiz, C. Centeno. 1992. Effect of tannins from faba beans (*Vicia faba*) on the digestion of starch by growing chicks. *Anim. Feed Sci. Technol.* 37: 345-349.
- Udem, P., y P.J. Van Soest. 1984. Investigations of the in situ bag technique and a comparison of the fermentation in heifers, sheep, ponies and rabbits. *J. Anim. Sci.* 58:213-221.
- Valerio-Chaves, S. 1994. Contenido de taninos y digestibilidad *in situ* de algunos forrajes tropicales. *Agroforestería en las Américas.* 1:10-13.
- Van Eys, J.E. I.W. Mathius, P. Pongsapan y W.L. Johnson. 1986. Foliage of the tree legumes *Gliricidia*, *Leucaena* and *Sesbania* as a supplement to napier grass diets for growing goats. *J. Agric. Sci.* 107:227-233.
- Van Leeuwen, P., A.J.M. Jansman, J. Wiebenga, J.F.J. Koninx y J.M.V. Mouwen. 1995. Dietary effects on faba bean (*Vicia faba* L.) tannins on the morphology and function on the small-intestinal mucosa of weaned pigs. *Br. J. Nutr.* 73: 31-39.
- Van Soest, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd Ed. Comstock Press. Ithaca, NY. USA.
- Van Soest, P.J. y R.H. Wine. 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. Determination of plant cell-wall constituents. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 50:50.
- Waghorn, G.C., M.J. Ulyatt, A. John y M.T. Fisher. 1987. The effect of condensed tannins on the site of digestion of amino acids and other nutrients in shepp feed on *Lotus corniculatus*. *Br. J. Nutr.* 57: 115.
- Waterman, P.G. y S. Mole. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. Blackwell Scientific Publications, Oxford, U. K. pp 66-103.
- Wong, C.C. y M.M.A. Sharudin. 1986. Forage productivity of tree forage shrubs in Malaysia. *MARDI. Research Bulletin.* 14: 178-188
- Woodward, A. 1988. Chemical composition of browse in relation to relative consumption of species and nitrogen metabolism of livestock in southern Ethiopia. Ph.D. Dissertation. Cornell University, Ithaca, N.Y.
- Yu, F., P.J. Moughan y T.N. Barry. 1995. Effect of condensed tannins in cottonseed hulls on endogenous ileal amino acid loss in the growing rat. *J. Sci. Food Agric.* 68:451-455.