

Efecto de una mezcla múltiple de leguminosas herbáceas y *Leucaena leucocephala* en la población microbiana y productos fermentativos del rumen de añojos mestizos de Cebú

Juana Galindo, Yoandra Marrero, T. E. Ruiz, Niurca González, A. Díaz, Ana I. Aldama, Onidia Moreira, J. L. Hernández, Verena Torres y Lucía Sarduy

Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas,

La Habana, Cuba

Correo electrónico: galindo@ica.co.cu

Se manejaron 24 añojos de 134 kg de PV promedio en un diseño completamente aleatorizado para comparar el efecto de una mezcla múltiple de leguminosas herbáceas y *Leucaena leucocephala* en la población microbiana y productos fermentativos del rumen de añojos mestizos de Cebú. Los tratamientos fueron: (A) *Leucaena leucocephala* y (B) mezcla múltiple de leguminosas herbáceas, integrada por *Neonotonia wightii*, *Pueraria phaseoloides*, *Macroptilium atropurpureum* y *Centrocema pubescens*. La carga animal fue de tres animales/ha y la duración del experimento, de 150 d. La utilización de la mezcla múltiple de leguminosas herbáceas triplicó la población de bacterias celulolíticas del rumen (11.1 y 34.2×10^6 ufc/mL para A y B, respectivamente). Las poblaciones de bacterias viables totales y proteolíticas fueron superiores en el rumen de los añojos que se encontraban en la mezcla múltiple de leguminosas herbáceas con respecto a los que se hallaban en *L. leucocephala*. No hubo diferencias en las poblaciones de hongos y protozoos. La concentración de amoníaco fue 13.58 y 18.26 mmol/L para *L. leucocephala* y leguminosas herbáceas, respectivamente. La mezcla múltiple de leguminosas herbáceas incrementó en 12% la concentración de AGCC totales. La concentración de ácido acético fue 84.78 y 102.68 mmol/L y la de propiónico, 20.22 y 14.13% para A y B, respectivamente. Se concluye que el pastoreo con leguminosas herbáceas incrementa los organismos celulolíticos y mejora la composición microbiana ruminal en relación con *L. leucocephala*, aunque ambos sistemas son apropiados para mantener el adecuado funcionamiento del rumen en añojos en pre ceba.

Palabras clave: rumen, leucaena, leguminosas herbáceas, bacterias celulolíticas, rumen, añojos

El empleo de leguminosas tropicales como alternativa para suplementar las raciones del ganado bovino en ceba se ha incrementado en los últimos años. Al respecto, Ruiz, (2005) señaló que *Leucaena leucocephala* es una de las leguminosas más utilizadas en Cuba. Entre las cualidades que la distinguen se encuentra su alto contenido proteico (Delgado *et al.* 1996, Ku Vera *et al.* 2000 y Ku Vera 2005), que le permite ganancias de peso vivo de hasta 800 g/animal/d en toros mestizos de Cebú, sin que existan riesgos para la salud de los animales (Castillo *et al.* 2005).

En trabajos desarrollados por Galindo *et al.* (2005) y Galindo *et al.* (2007), al evaluar el efecto de la suplementación con 30% de la MS como *L. leucocephala* en vacas y la composición del pastizal de *Leucaena leucocephala* con gramíneas en la población microbiana ruminal de toros, se demostró que esta leguminosa arbustiva incrementa la población de bacterias celulolíticas y la actividad de sus enzimas. Además, reduce el número de protozoos.

Monzote *et al.* (1985) y Ruiz y Febles (1999) desarrollaron tecnologías para la utilización de las leguminosas herbáceas en el crecimiento de machos bovinos. Esta se basó primero en asociaciones de una o dos leguminosas en 100% del área de pastos naturales bajo el concepto de bancos, con diferentes proporciones del área de pastizal. Estudios realizados por Galindo *et al.* (1985) demostraron que el acceso a un banco de *Glycine* (*Neonotonia wightii*), dos horas diarias o en días alternos, produjo incremento en la población de

bacterias viables totales y celulolíticas y redujo la población de ciliados, sin modificar la población de protozoos totales.

A pesar de encontrar resultados favorables con la utilización independiente de *L. leucocephala* y leguminosas herbáceas, no se habían desarrollado estudios relacionados con la fermentación ruminal, en los que se compararan ambos sistemas en la categoría de añojos en pre ceba.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de mezclas múltiples de leguminosas herbáceas con *Leucaena leucocephala* en la población microbiana y productos fermentativos del rumen de añojos mestizos de Cebú.

Materiales y Métodos

El experimento se condujo en las áreas de pastoreo del cebadero de toros «Ayala», pertenecientes al Instituto de Ciencia Animal, ubicado en el municipio San José de las Lajas, La Habana, a 92 msnm, $22^{\circ} 53'$ latitud norte y $82^{\circ} 02'$ longitud oeste. El suelo es de tipo fercialítico, ondulado, con 4.84% de materia orgánica, 0.26 de nitrógeno total, 40.59 ppm de fósforo, 4.60 de calcio, 0.46 de magnesio y pH de 6.34 .

La asociación de leguminosas herbáceas con pastos naturales se estableció de acuerdo con la metodología de Ruiz *et al.* (2001). En la siembra de leucaena se procedió según instrucciones de Ruiz y Febles (1999). Ambos sistemas tenían siete años de establecidos y estaban en explotación continua.

Tratamientos. Se compararon los tratamientos (A) *Leucaena leucocephala* y (B) mezclas múltiples de leguminosas herbáceas.

Animales. Se utilizaron 24 añojos mestizos de Cebú (3/4 Cebú x 1/4 *Holstein*), de 134 kg de PV promedio, en un diseño completamente aleatorizado, a razón de 12 animales por tratamiento.

Manejo de los alimentos. La mezcla múltiple de leguminosas herbáceas estuvo integrada por: *Neonotonia wightii*, *Pueraria phaseoloides*, *Macroptilium atropurpureum* y *Centrocema pubescens* con pastos naturales.

Leucaena leucocephala estuvo en 100 % del área asociada con pastos naturales. Su densidad poblacional fue de 6 000 plantas/ha. La estructura de los pastos naturales fue *Sporobolus indicus*, *Dechantium anmorlatum* y *Paspalum notatum*

Para calcular la disponibilidad del pasto se efectuaron tres muestreos en la etapa experimental, según el método de Haydock y Shaw (1975), mientras que para leucaena se simuló el ramoneo de tres plantas (pequeña, mediana y grande), cada 15 plantas de cada hilera. La composición en PB fue de 7.6, 24.2 y 19.5 % para pastos naturales, *L. leucocephala* y mezcla de leguminosas herbáceas, respectivamente (AOAC 1995). La disponibilidad de MS se expresó en función de la presión de pastoreo y fue de 12.9 kg de MS/100 kg de PV en el tratamiento con mezcla de leguminosas y 9.9 kg de MS/ 100 kg de PV con leucaena

La carga fue de 3 animales/ha (1.27 UGM). El experimento duró 150 d en período lluvioso, comprendido entre mayo y octubre de 2005. El área total del experimento fue de 12 ha, 6 ha para cada uno de los tratamientos, y se dividieron en 8 cuarterones, de 0.75 ha. Los animales recibieron además, agua a voluntad y premezcla mineral M-6. La composición de la premezcla mineral en g/kg fue: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 500; NaCl, 400; ZnCO_3 , 10; FeSO_4 , 27; MgSO_4 , 23; CoSO_4 , 0.1; Na_2SeO_4 , 0.02 y 19.86 de maíz molido.

Muestreos de líquido ruminal. Los muestreos de líquido ruminal se efectuaron por vía esofágica. Se utilizó una sonda que se introdujo por la boca, vía esófago hasta el rumen, a las 10 a.m. La frecuencia de muestreo fue cada 30 d. En cada muestreo se extrajo líquido ruminal a dos animales de cada tratamiento.

Las muestras de líquido ruminal, se trasladaron al laboratorio en termos herméticamente cerrados. El líquido se filtró a través de muselina. Posteriormente se determinó el pH y se efectuaron siembras de bacterias viables totales, celulolíticas, proteolíticas y hongos celulolíticos.

Las siembras de bacteria viables totales y celulolíticas se efectuaron según las técnicas de anaerobiosis descritas por Hungate (1950) en los medios de cultivo diseñados por Caldwell y Bryant (1966) y modificados por Elías (1971). Con los hongos se procedió mediante la técnica de Joblin (1988). El pH se determinó en un pH- metro

E.I.L, modelo 22-A. Para las inoculaciones se utilizaron tres diluciones. Cada una de ellas se replicó tres veces. De cada medio de cultivo utilizado durante todo el desarrollo experimental se inocularon 9 tubos por tratamiento. Los conteos de colonias se realizaron con la ayuda de una lupa. El número de unidades formadoras de colonia y de talo se determinó por conteo visual de aparición de las colonias en los tubos rodados.

Los protozoos se preservaron en formol al 10 % en una dilución 1:1 (v/v). Las muestras preservadas se guardaron en refrigerador a 4°C. Posteriormente se contaron al microscopio óptico, en cámara de Neubauer. Para ello los protozoos se tiñeron con solución de violeta genciana a 0.01 % en ácido acético glacial al 1 %, de acuerdo con la metodología de Elías (1971).

Para la determinación de la concentración de amoníaco (NH_3) se utilizó la técnica de micro difusión de Conway (1957). La concentración de ácidos grasos de cadena corta totales e individuales se determinó por cromatografía gaseosa, según Cottyn y Boucqué (1968). Se calcularon las proporciones relativas de los diferentes ácidos grasos individuales, así como el patrón de fermentación ruminal.

Tratamiento estadístico a los conteos de microorganismos. Para el tratamiento estadístico de los resultados experimentales se consideró el diseño experimental empleado. En los casos necesarios, se utilizó la dócima de Duncan (1955) para $P < 0.05$. Los análisis estadísticos se realizaron con los paquetes estadísticos Info Stat (2002) y SPSS⁺ (Visauta 1998)

Los conteos de microorganismos se transformaron según Log N para garantizar las condiciones de normalidad en la curva de crecimiento. Para el análisis se aplicó la fórmula $(K+N) \cdot 10^x$, donde:

K = logaritmo de la dilución donde se inoculó el microorganismo

N = logaritmo del conteo de colonias, determinado como ufc/mL, uft/mL, o células/mL

10 = base de los logaritmos

X = dilución a la que se efectuó la inoculación

Resultados y Discusión

En el rumen de los animales que consumieron mezclas múltiples de leguminosas herbáceas se encontró mayor población de bacterias viables totales y proteolíticas con respecto a los que consumieron leucaena (tabla 1). Este efecto en la población de bacterias proteolíticas puede constituir la causa principal del incremento en la concentración de amoníaco en el líquido ruminal.

Se conoce que la proteína de *L. leucocephala* es relativamente menos degradada en rumen, debido a la presencia de taninos condensados totales (1.80-4 % de la MS). A partir de trabajos desarrollados por Chongo *et al.* (2000) y La O (2001), se conoce que el contenido en taninos condensados puede ejercer efecto protector de la proteína en el rumen al formar complejos

Tabla 1. Efecto de mezclas múltiples de leguminosas en la población microbiana y productos fermentativos en añajos mestizos

Indicador	<i>L. leucocephala</i>	Mezcla leguminosas herbáceas	EE ± SIG
Bacterias viables totales, 10 ¹¹ ufc. mL ⁻¹	2.04 (32.51)	2.95 51.81)	0.15*
Bacterias proteolíticas, 10 ⁶ ufc. mL ⁻¹	1.17 (6.52)	2.28 (40.23)	0.12**
Hongos celulolíticos, 10 ⁴ uft. mL ⁻¹	1.85 (10.01)	1.98 (11.00)	0.14
Protozoos, células. mL ⁻¹	1.01 (6.32)	1.82 (9.98)	0.26
pH	6.65	6.96	0.02
NH ₃ , mmol.L ⁻¹	13.58	18.26	2.10*

Datos transformados según Ln X

Medias originales entre paréntesis

* P < 0.05 ** P < 0.01

taninos- proteínas. Esto pudiera constituir una ventaja de esta planta, ya que propicia mayor proteína de sobrepaso hacia las partes bajas del tracto gastro intestinal (TGI), lo que se traduce en mayor respuesta animal, siempre que se encuentre entre 2 y 4 % de MS (límite establecido en rumiantes), y que no afecte el buen funcionamiento ruminal (Makkar 2003). Sin embargo, la proteína de las leguminosas herbáceas se degrada al llegar al rumen con mayor rapidez, debido a que presenta fracciones solubles de albúminas y globulinas con respecto a glutelinas y prolaminas (Chongo *et al.* 2006), además de menor concentración de compuestos resultantes del metabolismo secundario, como taninos condensados e hidrolizables. Estos atributos de las leguminosas herbáceas resultan ventajosos para los animales en crecimiento, ya que los compuestos nitrogenados tendrán, relativamente, mayor degradabilidad en el rumen, aspecto que incrementa la síntesis de proteína microbiana.

Stern *et al.* (1994) informaron que la proteína bruta y los hidratos de carbono fermentados en el rumen son los principales nutrientes que se necesitan para el crecimiento de los microorganismos ruminales. De esa manera, la fermentación de las proteínas en el rumen proporciona nitrógeno amoniacal, aminoácidos, esqueletos carbonados y energía en forma de ATP para la síntesis de proteína microbiana.

Es evidente que el suministro de dietas que proporcionen elementos carbonados como nitrogenados disponibles contribuirá a una mejor utilización digestiva de los nutrientes para los procesos metabólicos y productivos de los animales en crecimiento.

La utilización de leguminosas herbáceas como arbustivas, así como el follaje de los árboles como suplemento proteico en los sistemas de explotación ganadera de países tropicales es de gran aceptación (Galindo *et al.* 2009), ya que la fracción proteica de estas plantas es capaz de suplir en gran medida las necesidades de proteína de los animales, según su propósito

productivo. Estas razones inducen a optimizar la cantidad de proteína que se sintetiza por los microorganismos ruminales, ya que no sólo contribuyen, mayoritariamente, a la cantidad de proteína disponible en el intestino delgado, sino que su proteína tiene un perfil de aminoácidos de excelente calidad, aspecto que depende, fundamentalmente, de la actividad proteolítica de los microorganismos que lo habitan, de la accesibilidad de las bacterias a la proteína y del tiempo de retención de las partículas alimenticias en el rumen (NRC 2001).

Hoover y Stokes (1991), al investigar el efecto de las fuentes proteicas en la síntesis de proteína microbiana en el rumen, estudiaron varios trabajos *in vivo* e *in vitro* y demostraron que existe alta correlación entre el nivel de proteína degradable en la dieta y la eficacia de síntesis de proteína microbiana. Comprobaron además que la máxima eficacia de síntesis de proteína microbiana y el mayor aporte de proteína de origen microbiano al duodeno se alcanza en dietas que contienen entre 10 y 13 % de proteína degradable en la ración. De esa manera, señalan que la eficacia media de síntesis de proteína microbiana en el rumen es de 30 g de N/kg de materia orgánica verdaderamente fermentada (MOVF), pero los valores variaron entre 10 y 50 g de N/kg de MOVF, con una fermentabilidad verdadera de 55 %.

El número total de hongos celulolíticos, protozoos totales y pH fue similar en el rumen de animales en los dos sistemas de alimentación con leguminosas, aspecto que se ha señalado en trabajos precedentes de Galindo *et al.* (2005) y Galindo *et al.* (2006, 2007).

La población de bacterias celulolíticas se mantuvo en el orden de 10⁶ ufc/mL para ambos sistemas con leucaena y mezclas múltiples de leguminosas herbáceas. Estos valores son normales y permiten la adecuada actividad de los procesos fermentativos que conducen a la degradación de la fibra en el rumen. Sin embargo, la utilización de mezclas de leguminosas herbáceas triplicó la población de bacterias celulolíticas (Figura 1).

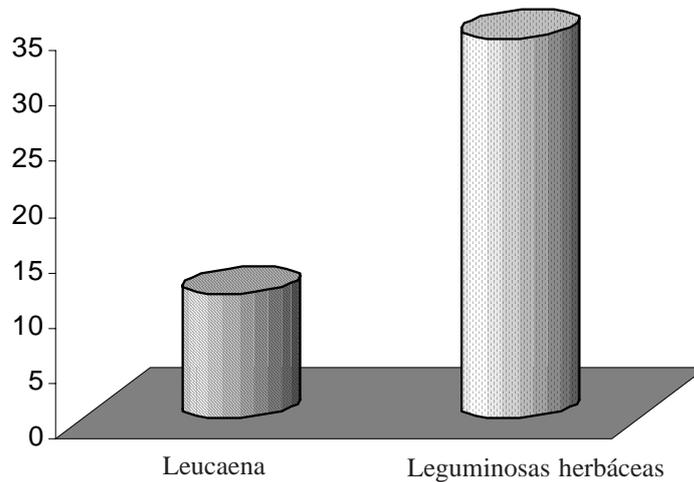


Figura 1. Efecto de mezclas múltiples de leguminosas en la población de bacterias celulolíticas del rumen de añojos mestizos, 10^6 ufc/mL EE±0.07*

Estos resultados demuestran, una vez más que, la utilización de leguminosas que aportan fuentes proteicas propicia mayor disponibilidad de compuestos como amoniaco, aminoácidos y péptidos, así como ácidos grasos de cadena corta ramificados, los cuales se producen como resultado de la degradación de las proteínas (Chongo *et al.* 1998, Araque 2003 y De Luca 2003). Estas sustancias favorecen la degradación de la fibra (Hoover y Stokes 1991), ya que actúan como activadores del crecimiento de muchas de las bacterias ruminales, fundamentalmente, las celulolíticas. Este aspecto resulta de gran importancia para la nutrición de animales en crecimiento ceba y contribuye a la mayor disponibilidad de nutrientes para los procesos metabólicos que conducen a la deposición ósea y muscular.

La concentración de ácidos grasos de cadena corta totales (AGCC_t) e individuales se muestra en la tabla 2.

La concentración de AGCC_t y acético fueron mayores en el rumen de añojos que consumen la mezcla múltiple de leguminosas herbáceas. Sin embargo, la concentración de ácido propiónico fue menor.

En ambos sistemas, el patrón de fermentación ruminal es acético molar (72.17 y 77.92 %) para leucaena y mezclas de leguminosas herbáceas, respectivamente. Las proporciones molares de los diferentes ácidos grasos de cadena corta se muestran en la tabla 3.

En el rumen de los animales que consumen leucaena, la concentración de ácido propiónico y su porcentaje molar es mayor. Esto condujo a una relación acético: propiónico de 3.56 y 5.51 para los animales en leucaena y mezcla leguminosas herbáceas, respectivamente. Este aspecto resulta ventajoso para los animales que se encuentran en pre ceba, ya que el ácido propiónico es gluconeogénico.

Tabla 2. Efecto de mezclas múltiples de leguminosas en los productos fermentativos en añojos mestizos de Cebú

Indicador	<i>L. leucocephala</i>	Mezcla leguminosas herbáceas	EE ± SIG
AGCC _t , mmol. L ⁻¹	117.48	131.77	3.45*
Ácido acético, mmol. L ⁻¹	84.78	102.68	2.23*
Ácido propiónico, mmol. L ⁻¹	23.75	18.62	1.19*
Ácido butírico, mmol. L ⁻¹	6.89	7.08	1.03
Ácido isovalérico, mmol. L ⁻¹	1.41	1.45	0.87
Ácido valérico, mmol. L ⁻¹	0.65	1.94	0.05

P < 0.05

Tabla 3. Proporciones molares de los diferentes ácidos grasos de cadena corta en el rumen de añojos mestizos de Cebú

Indicador	<i>L. leucocephala</i>	Mezcla de leguminosas herbáceas
Acético, % molar	72.17	77.92
Propiónico, % molar	20.22	14.13
Butírico, % molar	5.86	5.37
Isovalérico, % molar	1.20	1.10
Valérico, % molar	0.55	1.78

Se concluye que el pastoreo con leguminosas herbáceas produce incrementos en los organismos celulolíticos y mejora la composición microbiana ruminal en relación a *L. leucocephala*, aunque ambos sistemas son apropiados para mantener un adecuado funcionamiento del rumen en añojos en preceba. Estos resultados contribuyen a recomendar una estrategia de manejo de animales en ceba con leguminosas, en la cual se utilice la mezcla múltiple de leguminosas herbáceas en la etapa de preceba y se emplee leucaena en la ceba finalización.

Agradecimientos

Se agradece a los trabajadores del cebadero «Ayala» del Instituto de Ciencia Animal por su valiosa colaboración en el manejo de los animales experimentales y en los muestreos de líquido ruminal.

Referencias

- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 15th Ed. Assoc. Off. Anal. Chem. Arlington, V.A.
- Araque, C. 2003 Uso de la urea en la alimentación de rumiantes. Disponible: <<http://ceniap.gov.ve/publica/divulga/fd50/urea.htm>> [Consultado: 10/7/2008]
- Caldwell, D.R. & Bryant M. P. 1966. Medium without fluid for non-selective enumeration and isolation of rumen bacteria. *Appl. Microb.* 14:794
- Castillo, E. Ruiz, T., Febles, G. & Galindo, J. 2005. Producción animal con *Leucaena leucocephala*. II Curso Internacional Silvopastoril Cuba Colombia. Neiva-Bogotá- Valledupar, Colombia. p. 125
- Castillo, E., Ruiz, T., Febles, G., Galindo, J. & Jordán, H. 2002. Efecto de *Leucaena* en 100% de área de pasto en el comportamiento productivo de toros cebú en crecimiento-ceba. Informe técnico. CITMA-GEPROP. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba
- Conway, D. G. 1957. Microdiffusion analysis and volumetric error. 4th Edition. Crosby, Lockwood, Ltd, Londres.
- Cottyn, D. G. & Boucque, C.V. 1968. Gas chromatography. *J. Agric. Food. Chem.* 16:105.
- Chongo, B., Delgado, D., La O, O. & Galindo, J. 2006. Fraccionamiento de la proteína de diferentes leguminosas herbáceas y arbustivas. Informe técnico. Instituto de Ciencia Animal- CITMA-GEPROP. La Habana, Cuba
- Chongo, B., La O, O., Delgado, D. & Galindo, J. 2000. Metabolitos secundarios en diferentes plantas. Informe técnico. Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba
- Chongo, B., La O, O., Delgado, D., Scull, I., Santos, Y. & Galindo, J. 1998. Polifenoles totales y degradación ruminal in situ del nitrógeno en árboles forrajeros promisorios para la alimentación del ganado. III Taller Internacional Silvopastoril: Los árboles y arbustos en la ganadería. Estación Experimental de Pastos y Forrajes «Indio Hatuey». Matanzas, Cuba. p. 11
- De Luca, L.J. 2003. Urea: su utilización en rumiantes. HYPERLINK. Disponible: <<http://www.ergomix.com/nuevo/prueba/areadeganaderialeche1.aspvalor=133>> [Consultado: 17/5/2007]
- Delgado, D., Galindo, J., Chongo, B. & Curbelo, T. 1996. Efecto del nivel de inclusión de la *Leucaena leucocephala* en el consumo y la digestibilidad de la fibra en carneros. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 30:283
- Duncan, D.E. 1955. Multiple range and multiple F. test. *Biometrics.* 11:1
- Elías, A. 1971. The rumen bacteria of animals fed on a high-molasses urea diet. Thesis Ph. D. Aberdeen
- Galindo, J., Delgado, D. & Chongo, B. 2005. Papel de los árboles, arbustos y leguminosas en la población microbiana ruminal. II Curso Internacional Silvopastoril Cuba Colombia. Neiva-Bogotá- Valledupar, Colombia. p. 130
- Galindo, J., Delgado, D., Chongo, B. & La O, O. 2006. Efecto de metabolitos secundarios de especies vegetales arbóreas y arbustivas en la población microbiana ruminal de animales. Informe técnico. Programa Biotecnología Agrícola. CITMA-GEPROP. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba
- Galindo, J., Elías, A. & Pereiro, M. 1985. Efecto de la suplementación con Glycine en la población microbiana ruminal de vacas que consumen ensilaje. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 19:261
- Galindo J., García, C., Marrero, Y., Castillo, E., Aldana, A.I., Torres, V. & Sarduy, L. 2007. Efecto de la composición del pastizal de *Leucaena leucocephala* con gramíneas en la población microbiana ruminal de toros. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 41:145
- Galindo, J., González, N. & Delgado, D. 2009. Los árboles como controladores de los metanógenos y producción de metano en el rumen. II Taller Internacional Salud y Producción Animal. II Congreso Cubano de Desarrollo Local. Granma, Cuba
- Haydock, K. P. & Shaw, N.H. 1975. The comparative yield method for estimating dry matter of pasture. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 15:663.
- Hoover, W.H. & Stokes, S. 1991. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *J. Dairy Sci.* 74:3630
- Hungate, R. G. 1950. The anaerobic, mesophilic cellulolytic bacteria. *Bacterial Ref.* Vol. 14:1
- Joblin, K.N. 1981. Isolation, enumeration and maintenance of rumen anaerobic fungi in roll tubes. *Appl. Environ. Microb.* p. 111
- Ku Vera, J. 2005. Uso de árboles para la alimentación animal en el estado de Yucatán, México. II Curso Internacional Silvopastoril Cuba Colombia. Neiva-Bogotá- Valledupar, Colombia. p. 120
- Ku Vera, J., Ramírez C., Jiménez, G., Alayón, J. & Ramírez, L. 2000. Árboles y arbustos para la producción animal en el trópico mexicano. Conferencia electrónica. FAO. Disponible: <<http://www.fao.org/wa/su/02apr>>
- La O., O. 2001. Contribución al estudio del valor nutritivo de diferentes ecotipos del género *Leucaena* para la alimentación de rumiantes. Tesis Doctor en Ciencias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba
- Makkar, H.P.S. 2003. Quantification of tannins in tree and shrub foliage. A laboratory manual. Kluwer Academic, Netherlands. 102p.
- Monzote, M., Castillo, E., & López, A. & García, M. 1986. Sistemas basados en gramíneas puras asociadas con leguminosas para la producción de carne. II. Comportamiento de los animales. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 20:93

- NRC 2001. Nutrient Requirement of Dairy Cattle. Ruminant Nitrogen Usage .7th rev. Edit. Nacional Academic Press. Washington, DC
- Ruiz, T. 2005. Siembra, establecimiento y biomasa de *Leucaena leucocephala*. II Taller Internacional Silvopastoril. Cuba - Colombia. Bogotá, Colombia. p. 115
- Ruiz, T.E. & Febles, G. 1999. Sistemas silvopastoriles. Conceptos y Tecnologías desarrolladas en el Instituto de Ciencia Animal. Ed. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba. p. 12
- Ruiz, T. E., Febles, G., Alonso, J., Valenciaga, N., Torres, V., Crespo, G., Díaz, H., Gutiérrez, J.C. & Mora, C. 2001. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 43, Número 3, 2009. Tecnología para el establecimiento y puesta en explotación de leguminosas rastreras y arbustivas. Informe técnico. CITMA-ICA. La Habana, Cuba
- Stern, M.S., Calsamiglia, S. & Endres, M. I. 1994. Dinámica del metabolismo de los hidratos de carbono y del nitrógeno en rumen. En: Producción bovina de carne. University of Minnesota (USA) - Curso de Especialización FEDNA (Madrid)
- Visauta, B. 1998. Análisis estadístico con SPSS para Window. Estadística multivariada. Vol II. Ed. Mc Graw-Hill/ Interamericana de España, S.A.V. p. 358

Recibido: 16 de septiembre de 2008