

EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON LEUCAENA (*Leucaena leucocephala* LAM. DE WIT) SOBRE LA DEGRADABILIDAD RUMINAL DEL PASTO ALEMÁN (*Echinochloa polystachya* H.B.K. HITCH)

Effect of Leucaena Supplementation (*Leucaena leucocephala* Lam. De Wit) on Ruminal Degradability of Aleman-Grass (*Echinochloa polystachya* H.B.K. Hitch)

Juan Vergara-López¹, Ángel Rodríguez-Petit², Carlos Navarro² y Ángel Atencio²

¹Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Estación Local El Guayabo.

²Universidad Nacional Experimental Sur del Lago (UNESUR), Venezuela. E-mail: jvergara@inia.gob.ve

RESUMEN

Para evaluar el efecto de la suplementación con Leucaena sobre la degradabilidad de la materia seca (MS) del pasto Alemán (PA), se determinó *in situ* la degradabilidad potencial (a+b), fracción soluble (a), máxima a 96 h (b), tasa de degradación (c), pH ruminal y nitrógeno amoniacal. Se utilizaron tres machos Criollo Limonero castrados, con 14 días de adaptación a la dieta (F1) y 4 días de incubación (F2). Las dietas fueron: T1: PA + alimento concentrado (AC), T2: PA + Leucaena 2 kg una vez al día y T3, PA + Leucaena 2 kg suministrada 1 kg en la mañana otro en la tarde. Durante F2 las bolsas de nylon se incubaron secuencialmente, a 0; 6; 12; 24; 48; 72 y 96 horas. Se midió el pH del líquido ruminal en F2 a las 0; 3; 6; 9; 12 y 24 h. Se utilizó un diseño en cuadrado latino con tres repeticiones, la degradabilidad ruminal se analizó mediante regresión no lineal. No se encontró diferencia para a, b y c entre los tratamientos, mientras que para la a+b el valor alto ($P < 0,05$) se obtuvo para T3 (62,91%) en comparación con T1 y T2 (58,31 y 59,17%, respectivamente). El pH ruminal mas alto ($P < 0,05$) se observó en T3 (6,74), comparado con T1 y T2 (6,66; 6,65; respectivamente). Los valores de nitrógeno ruminal fueron 405,00; 486,14 y 508,25 mg L⁻¹ para T1, T2 y T3, respectivamente. Se concluye que el suministro de *L. leucocephala* dos veces por día, mejora la degradabilidad del pasto Alemán.

Palabras clave: Degradabilidad ruminal, suplementación, pasto alemán, leucaena.

ABSTRACT

To evaluate the effects of Leucaena supplementation on *in situ* ruminal dry matter (DM) degradability of Aleman-grass (AG), DM potential degradability (a+b), soluble fraction (a), maximum degradability (DM), degradation rate (c), ruminal pH and ammonia nitrogen, three ruminal cannulated Criollo Limonero steers were fed at 14-day adaptation period (F1) and samples were taken during the following 4-day period (F2). Diets were: T1, Aleman-grass (AG) + concentrate (CO); T2, PA + 2 kg Leucaena once a day and T3, PA + 2 kg Leucaena twice a day. During F2 nylon bags were sequentially incubated on 0; 6; 12; 24; 48; 72 and 96 h, and rumen contents pH were measured on 0; 3; 6; 9; 12 y 24 h post feeding. A Latin Square design with three replications was used and ruminal degradability data was analyzed by nonlinear regression model. No differences between treatments were found for a, b and c. a+b was higher ($P < 0.05$) on T3 (62.91%) than T1 (58.31%) or T2 (59.17%). Ruminal pH was higher ($P < 0.05$) in T3 (6.74) than T1 (6.66) and T2 (6.65). Ammonia nitrogen values were 405.00; 486.14 and 508.25 mg L⁻¹ for T1, T2 y T3, respectively. It was conclude that *L. leucocephala* fed twice a day increases DM degradability of Aleman-grass.

Key words: Ruminal degradability, supplementation, aleman-grass, leucaena.

INTRODUCCIÓN

Los pastos tropicales presentan altos contenidos de carbohidratos estructurales, mientras que son bajos en contenido de nitrógeno, carbohidratos no estructurales, lípidos y minera-

les esenciales, tanto para el animal como para los microorganismos ruminales [18].

Algunos estudios [2] han demostrado que la suplementación con leguminosas mejora la utilización de la dieta básica y la respuesta productiva en rumiantes. La Leucaena ha sido recomendada por numerosos investigadores, entre ellos, Shelton [15] quien reporta parámetros nutricionales de la Leucaena de un 23% en proteína cruda (PC) y 66% de digestibilidad de MS *in vitro* (DIVMS). La digestibilidad de la materia orgánica (DIVMO) fue 62% en una evaluación de *L. leucocephala* llevada a cabo en condiciones de bosque seco tropical [10].

En Venezuela, la utilización de leguminosas arbóreas es realizada principalmente mediante el pastoreo por períodos de tiempo en bancos de proteína, los cuales son establecidos en monocultivos [12]. El pastoreo restringido en estos cultivos provee al animal de una ración alta en nitrógeno que mejora la degradación de materiales fibrosos proveniente de las gramíneas a pastoreo.

La inclusión en niveles crecientes (> 20% en base seca) de estas leguminosas, permiten mejorar la digestibilidad total de la fibra y consumo de materia seca. También, la degradabilidad *in situ* de la PC de Leucaena indica un nivel de 54%, esto sugiere que de 100 g de PC, sólo 54 g son degradados en el rumen, pasando al tracto gastrointestinal posterior 46 g de proteína (proteína sobrepasante) que representan una contribución directa al animal [13].

Algunos autores mencionan que los principales grupos de bacterias ruminales (celulolíticas, metanogénicas y amilolíticas) en animales con dieta básica de pastos tropicales, mantienen una actividad óptima en un rango de pH entre 5,2 a 6,8 [1, 4, 6]. Fluctuaciones en la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) están correlacionadas con fluctuaciones amplias en el pH ruminal a medida que la frecuencia de alimentación disminuye. La tasa de digestión de la fibra disminuye cuando el pH disminuye por debajo de 6,0, mientras que al mismo tiempo, esta tasa de digestión también actúa sobre la acidez ruminal entre comidas. Esto permite concluir que las fluctuaciones del pH ruminal se incrementan a medida que las fracciones degradables (FND) en el rumen son degradadas a componentes más sencillos [9].

De Veth [1] asegura que tiempos cortos (4 h) con niveles de pH subóptimos producto de frecuencias de alimentación prolongadas, disminuyeron la degradabilidad de la Materia Seca (MS), Materia Orgánica (MO) y Fibra Neutra Detergente (FND) hasta en 4 unidades porcentuales, sin embargo, son necesarios mayores tiempos (> 8 h) para afectar la síntesis microbiana.

La presente investigación tuvo por objeto evaluar el efecto de diferentes esquemas de suplementación con Leucaena (*Leucaena leucocephala* Lam de Wit), sobre la degradabilidad del pasto alemán (*Echinochloa polystachya* H.B.K. Hitch) y otros parámetros ruminales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área

La investigación fue desarrollada en la Estación Local El Guayabo, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), ubicada a 72° 19' 56" de longitud y 08° 39' 16" de latitud y una altitud de 35 msnm, en el municipio Catatumbo del estado Zulia, Venezuela. La zona está caracterizada como un Bosque Seco Tropical, con una precipitación de 1.803 mm año⁻¹, con distribución bimodal. La temperatura media es de 27,9°C, la humedad relativa es de 91% [3, 11].

Animales experimentales

Se utilizaron tres animales criollo limonero con fistulas permanentes en el rumen, edad promedio de 25 meses y peso promedio de 380 kg (\pm 15). Los animales se mantuvieron estabulados en corrales con una superficie aproximada de 9 m² techados, con piso de concreto, bebederos y comederos individuales. Los animales fueron alimentados a las 0800 h con pasto alemán fresco, cortado en el potrero diariamente y ofrecido en base a un consumo restringido a 2,5% del peso vivo, para dar cabida en el interior del rumen al material en evaluación. La leucaena era cortada de un banco de proteína existente en la estación, secado a 65°C y almacenado en sacos de fibra natural para su posterior suministro a los animales de acuerdo a sus respectivos tratamientos.

Degradabilidad ruminal

El pasto alemán fue cortado en el potrero y secado a 65°C por 48 h, posteriormente se molió y tamizó hasta un tamaño de 3 mm para degradabilidad ruminal y otra porción a 1 mm para análisis químicos. Muestras de pasto alemán de 10 g (base seca), fueron pesadas dentro de bolsas de nylon con tamaño de 10 x 20 cm, lo cual equivale a una relación de 25 mg de muestra por cm² de bolsa. Las bolsas fueron incubadas en triplicado dentro del rumen de los animales fistulados durante 0; 6; 12; 24; 48; 72 y 96 horas. Las bolsas incubadas y extraídas del rumen fueron lavadas con agua hasta que ésta salió limpia. Las muestras correspondientes a 0 h, no se incubaron dentro del rumen, sino que fueron lavadas sólo con agua [8].

Tratamientos aplicados

Se aplicaron tres tratamientos que correspondían a la alimentación base de los animales con pasto Alemán como testigo y la sustitución del alimento concentrado por dos diferentes esquemas de suplementación con leucaena como se describe en la TABLA I.

Diseño experimental

Se trabajó con un diseño en cuadrado latino 3 x 3, con arreglo de sobrecambio [16]. Todas las unidades experimenta-

les recibieron todos los tratamientos pero en periodos diferentes. El período experimental de 19 días estuvo subdividido en 14 días de adaptación a la dieta y 5 días de incubación ruminal.

La degradabilidad ruminal fue analizada mediante el método de cuadrados mínimos, generando los parámetros de la curva definida por el modelo propuesto por Ørskov y McDonald [8]:

$$D = a + b(1 - e^{-c \times t})$$

donde:

D Degradabilidad al tiempo t.

a : Intercepto de la curva, el cual representa las pérdidas por lavado.

b : Degradabilidad máxima o fracción insoluble pero potencialmente fermentable.

a + b: Potencial de degradación al tiempo t, o degradación máxima asumiendo que el material permanece en el rumen a $t = \infty$.

e : Constante matemática.

c : Tasa de degradación por unidad de tiempo.

t : Tiempo.

Los datos fueron analizados con el empleo del paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System). Los procedimientos involucrados fueron: regresión no lineal (PROC NLIN), análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias (LS MEANS) [14].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La TABLA II presenta el análisis bromatológico de los materiales en estudio. Resalta que el contenido de materia seca (MS) de los tres materiales es bastante similar y que la proteína cruda (PC) del pasto Alemán es inferior (7,94%) comparado con alimento concentrado (20,49%) y *L. leucocephala* (24,74%). El contenido de fibra cruda (FC) del pasto alemán es superior (32,93%) comparado con el concentrado y *L. leucocephala* (8,79 y 13,25%, respectivamente).

La solubilidad (a) para T1 fue de 0,40%, para T2 0,75% y para T3 1,46%, y aunque se nota una tendencia a incrementar, no se detectaron diferencias estadísticas entre tratamientos ($P > 0,05$) (TABLA III). El parámetro "a" corresponde a un valor ajustado por un modelo de regresión no lineal de la degradación real en el rumen, valor este que puede resultar ligeramente diferente ya que cada curva de degradación se comporta de manera distinta de acuerdo a las condiciones evaluadas [6].

Aunque los valores de solubilidad no presentaron diferencias estadísticas (TABLA III), se nota una tendencia creciente de ésta entre los tratamientos, siendo el mayor valor correspondiente al tratamiento donde se suministra leucaena dos veces al día (LDD).

Los valores obtenidos para "b" no demuestran diferencias entre tratamientos ($P > 0,05$), al igual que para "c". El parámetro "c" observado en este experimento se encuentra dentro de los valores señalados para otros pastos tropicales (TABLA III). Vergara-López y Araujo-Febres [18] reportan valores de tasa de degradación de la MS de *Brachiaria humidicola* desde 0,036 hasta 0,041% h^{-1} , utilizando un modelo de doble

TABLA I
DESCRIPCIÓN DE TRATAMIENTOS / TREATMENTS

Tratamientos	Descripción
Alimento concentrado (AC)	Pasto Alemán fresco (5 kg MS a las 0800 y 5 kg MS a las 1500 h) + 2 kg de alimento concentrado (a las 0800 h).
<i>L. leucocephala</i> una vez al día (LUD)	Pasto Alemán fresco (5 kg MS a las 0800 y 5 kg MS a las 1500 h) + 2 kg de Leucaena seca (a las 0800 h).
<i>L. leucocephala</i> dos veces al día (LDD)	Pasto Alemán fresco (5 kg MS a las 0800 y 5 kg MS a las 1500 h) + 2 kg de Leucaena seca (1 kg a las 0800 y 1 kg a las 1500 h).

TABLA II
ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE PASTO ALEMÁN, *L. leucocephala* Y ALIMENTO CONCENTRADO UTILIZADOS EN EL EXPERIMENTO / CHEMICAL ANALYSIS OF ALEMÁN-GRASS, *L. leucocephala* AND CONCENTRATE

	MS	PC	FC
	%		
Pasto Alemán	14,65	7,94	32,93
<i>L. leucocephala</i>	20,96	24,74	13,25
Alimento concentrado	90,07	20,49	8,79

MS: Materia seca total. PC: Proteína cruda. FC: Fibra cruda.

TABLA III
CINÉTICA DE LA DEGRADACIÓN EN EL RUMEN DE LA MS DE PASTO ALEMÁN EN ANIMALES CRIOLLO LIMONERO SUPLEMENTADO CON DIFERENTES ESQUEMAS DE SUMINISTRO DE *L. leucocephala* / RUMEN DEGRADATION KINETICS OF DM OF ALEMÁN-GRASS IN CRIOLLO LIMONERO STEERS SUPPLEMENTED WITH *L. leucocephala*

Parámetro	Tratamientos		
	AC	LUD	LDD
Solubilidad (a)	0,400 ^a ± 1,29	0,750 ^a ± 1,24	1,460 ^a ± 1,25
Degradación máxima (b)	57,910 ^a ± 1,98	58,410 ^a ± 2,34	61,450 ^a ± 2,91
Tasa de degradación (c)	0,024 ^a ± 0,004	0,021 ^a ± 0,001	0,018 ^a ± 0,002
Degradación potencial (a+b)	58,310 ^a ± 2,43	59,170 ^a ± 1,13	62,910 ^b ± 2,10

a, b y a+b, expresados en %. c: expresado en % h⁻¹. MS: Materia seca. AC: Alimento concentrado. LUD: Leucaena una vez al día. LDD: Leucaena dos veces al día. Medias con letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas (P < 0,05).

compartimiento de digestión para generar dichos parámetros, lo cual pudo arrojar valores ligeramente superiores a los obtenidos en esta experiencia, en la cual se utilizó un modelo de un solo compartimiento [6].

El mayor valor de "a+b" (P < 0,05), se observó en T3 (62,91%), mientras que T1 y T2 fueron estadísticamente similares (58,31 y 59,17%, respectivamente, TABLA III). Esto sugiere que este parámetro en pasto alemán se incrementa cuando se suministra la leucaena en forma fraccionada.

En la FIG. 1 se presentan las curvas de degradabilidad del pasto alemán en los tres tratamientos aplicados; las curvas tienen una expresión sigmoideal para T1 y T2 lo que sugiere la presencia de dos tasas de degradación una lenta y otra rápida, es decir, que al inicio la tasa de degradación no es favorecida por los efectos de los tratamientos, en cambio para T3 esta expresión tiende a ser exponencial sencilla, con sólo una tasa de degradación. El comportamiento sigmoideal en T1 y T2, se adapta perfectamente a materiales resistentes a la degradabilidad en el rumen, tal como los pastos tropicales. Diferentes autores han referido comportamientos similares en diversidad de pastizales, cuyas curvas de degradación en el rumen presentan una sinuosidad característica [6, 17, 18].

Posiblemente la curva de degradación en T3 fue modificada al dosificar dos veces al día una leguminosa arbórea, fenómeno que puede ser explicado debido a las condiciones mejoradas en el ambiente ruminal, producto de la dosificación de proteína degradable al rumen. Lascano [5] sugiere que el suministro de leguminosas arbóreas para la suplementación de forrajes de baja calidad en ovinos genera una producción de amonio ruminal más estable cuando se suministran las leguminosas durante un tiempo prolongado en asociaciones con el pastizal básico, mientras que en un esquema en el que se suministra la leguminosa una sola vez por día, tiende a presentarse un pico de producción de amonio, lo que favorece a la digestión del pastizal en ese preciso momento, pero luego puede tender a disminuir con el tiempo.

Los esquemas de suplementación con leucaena utilizados en este experimento tienden a comparar condiciones de

alimentación en asociación (LDD), donde el animal tiene la posibilidad de tener acceso al material de la leguminosa de manera más uniforme durante el tiempo de pastoreo, mientras que en pastoreo restringido en bancos de leguminosas (LUD), el animal tiene acceso a material de la leguminosa durante un período específico del tiempo de pastoreo lo que desfavorece la distribución en el tiempo del suministro de proteína.

El pH del líquido ruminal (FIG. 2A) en T3 (6,74), fue significativamente superior (P > 0,05) que en T1 y T2 (6,66 y 6,65, respectivamente). Posiblemente esto puede ser explicado mediante la tesis de que un suministro fraccionado de leucaena tiende a mantener constantes los niveles de pH, sin cambios bruscos que pudieran ocasionar fluctuaciones en las poblaciones de microorganismos. Las bacterias celulolíticas son las encargadas de degradar las fibras, y requieren de condiciones específicas de pH entre 6,2 y 6,8 [4, 7]. En este experimento, los niveles de pH fluctúan entre los valores antes mencionados, sin embargo, se observó cambios menos bruscos en el pH del ambiente ruminal en el tratamiento donde la leucaena fue suministrada dos veces al día (T3).

La producción de amonio en el rumen es indicativo inequívoco de utilización de proteína alimenticia por microorganismos para la fabricación de proteína microbiana, siendo el amonio el desecho de esta actividad [19]. Esto sugiere indirectamente que existe una población de microorganismos ruminales incrementada, la cual está degradando en mayor cuantía el material vegetal consumido.

Los valores de nitrógeno ruminal ($\bar{X} \pm EE$), fueron 405,00 ± 94,14; 486,14 ± 386,28; 508,25 ± 262,43 mg L⁻¹ para T1, T2 y T3, respectivamente. Como puede observarse en los valores de error estándar, el comportamiento de T2 y T3 es bastante más disperso que el observado en T1. En la FIG. 2B, se nota que la liberación del mismo es más uniforme en T1 mientras que en T2 y T3 tiende a ser más concentrado alrededor de las 9 horas postalimentación. Sin embargo el esquema de leucaena 2 veces al día (T3) provee una liberación del nitrógeno que garantiza condiciones de fermentación más uniformes en comparación con las ofrecidas en el esquema T2, donde se obser-

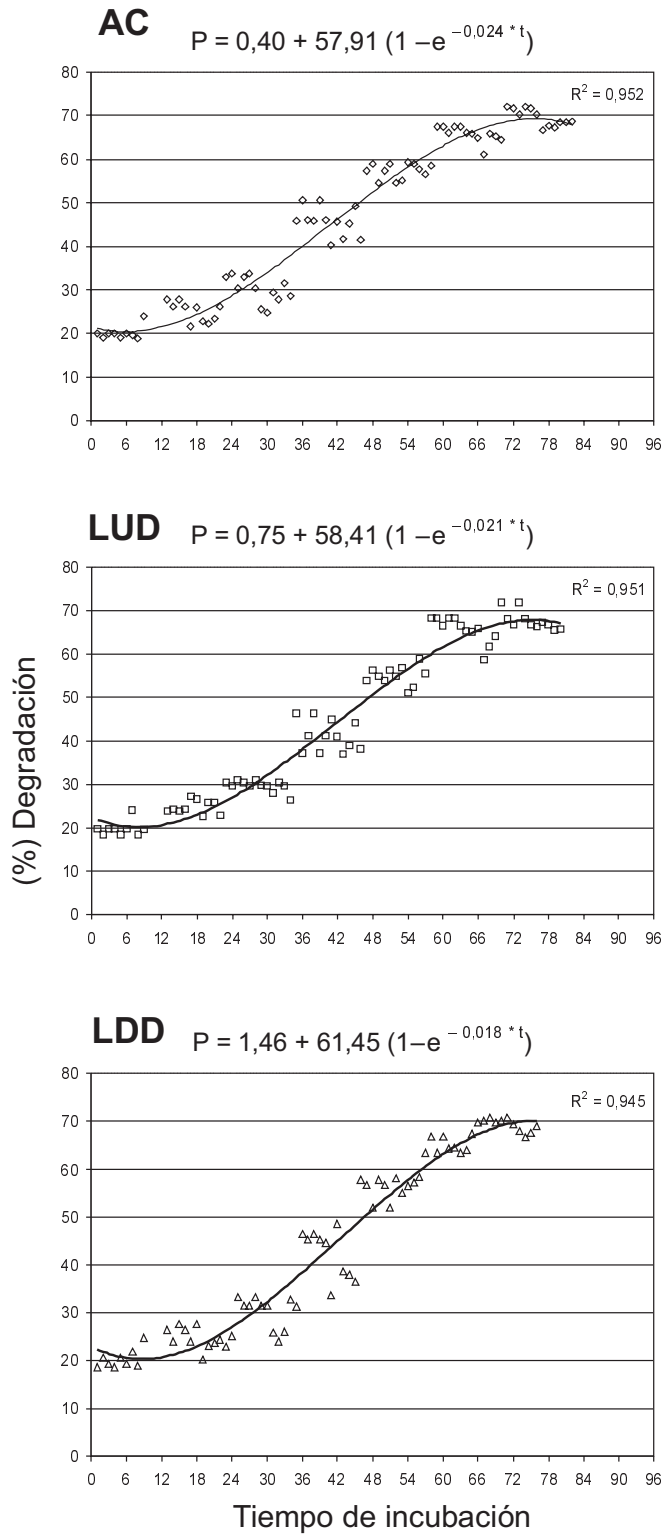


FIGURA 1. CURVAS DE DEGRADABILIDAD EN EL RUMEN DE LA MATERIA SECA PASTO ALEMÁN EN ANIMALES CRIOLLO LIMONERO SUPLEMENTADOS CON DIFERENTES ESQUEMAS DE SUMINISTRO DE *L. leucocephala* Y ALIMENTO CONCENTRADO / DRY MATTER RUMEN DEGRADABILITY CURVES OF ALEMAN-GRASS IN CRIOLLO LIMONERO STEERS SUPPLEMENTED WITH *L. leucocephala* AND CONCENTRATE.

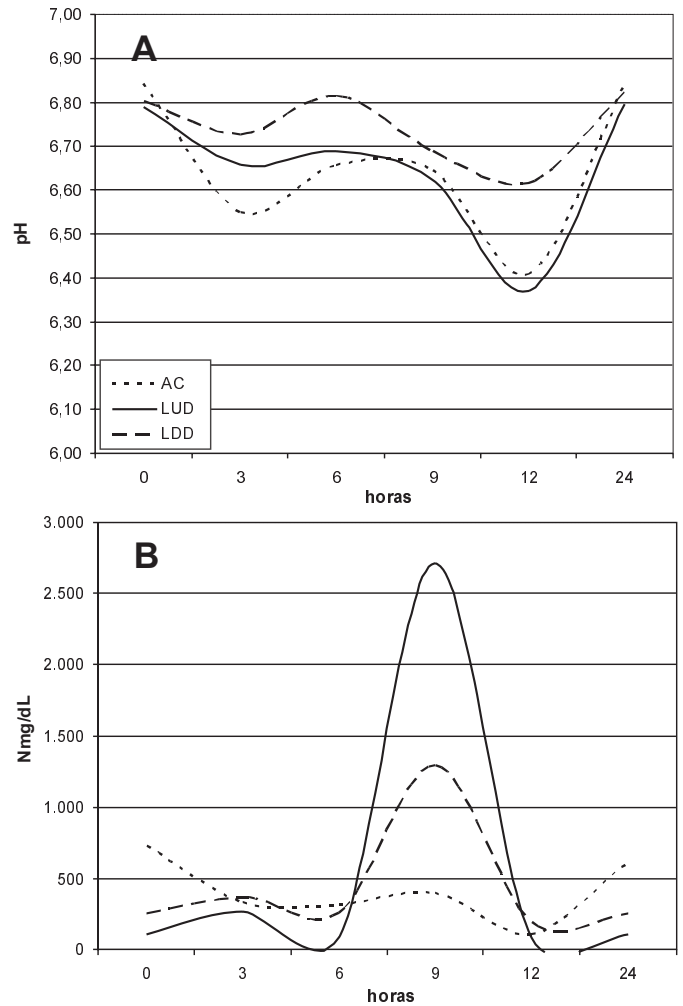


FIGURA 2. COMPORTAMIENTO DE LAS CURVAS DE A: POTENCIAL DE IONES HIDRÓGENO (pH) Y B: NITRÓGENO AMONICAL EN EL RUMEN DE ANIMALES CRIOLLO LIMONERO SUPLEMENTADOS CON DIFERENTES ESQUEMAS DE SUMINISTRO DE *L. leucocephala* / CURVE BEHAVIOUR OF A: ION HIDROGEN POTENTIAL (pH) AND B: RUMEN AMMONIA NITROGEN IN CRIOLLO LIMONERO STEERS SUPPLEMENTED WITH *L. leucocephala*.

va incluso períodos de muy baja disponibilidad de nitrógeno en el rumen, lo que puede estar asociado a menores tasas de degradación del pasto alemán.

CONCLUSIONES

El suministro de *L. leucocephala* dos veces al día incrementa la degradabilidad potencial de la MS de pasto alemán en comparación con los otros tratamientos comparados.

La degradabilidad inicial de la MS no fue afectada por el suministro de cualquiera de las dietas, debido al escaso tiempo de permanencia en el rumen. Tampoco existe diferencia para la degradabilidad máxima ni para la tasa de degradación de la MS para los tratamientos evaluados.

El pH ruminal tiende a mantenerse constante en el tiempo, bajo la condición alimenticia de *L. leucocephala* 2 veces al día, mientras que la liberación de nitrógeno en el rumen aunque fue menos uniforme en los tratamientos con leucaena, tiende a distribuirse mejor con el suministro dos veces al día.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean agradecer al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) por el financiamiento del subproyecto ID-ZUL-05-00102-04.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] DE VETH, M.J.; KOLVER, E.S. Diurnal variation in pH reduces digestion and synthesis of microbial protein when pasture is fermented in continuous culture. **J. Dairy Sci.** 84: 2066-2072. 2001.
- [2] ESPINOZA, F.; ARAQUE, C.; LEÓN, L.; QUINTANA, H.; PERDOMO, E. Efecto del banco de proteína sobre la utilización del pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*) en pastoreo con ovinos. **Zoot. Trop.** 19(3): 307-318. 2001.
- [3] EWEL, L.; MADRIZ, A. **Zonas de vida de Venezuela.** Memoria explicativa sobre el mapa ecológico. Ministerio de Agricultura y Cría. Dirección de Investigación. Caracas. 264 pp. 1968.
- [4] GRENET, E.; BESLE, J.M. Microbes and fibre degradation. In: Jouany, J.P. (Ed.) **Rumen microbial metabolism and ruminant digestion.** Institut National de la Recherche Agronomique. Paris, France. 107-129 pp.1991.
- [5] LASCANO, C.E. Oportunidades y retos en la utilización de leguminosas arbustivas como forraje suplementario en sistemas de doble propósito. En: Clavero, T. (Ed.), **Leguminosas forrajeras arbóreas en la agricultura tropical.** Centro de Transferencia de Tecnología en Pastos y Forrajes. La Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. 29-40 pp. 1996.
- [6] LÓPEZ, S.; FRANCE, J.; DHANOA, M.S.; MOULD, F.; DIJKSTRA, J. Comparison of mathematical models to describe disappearance curves obtained using the polyester bag technique for incubating feeds in the rumen. **J. Anim. Sci.** 77: 1875-1888. 1999.
- [7] ØRSKOV, E.R. **Protein Nutrition in ruminants.** 2nd Ed. Academic Press, New York. 188 pp. 1992.
- [8] ØRSKOV, E.R.; MCDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **J. Agric. Sci. Camb.** 92: 499-503. 1970.
- [9] PITT, R.E.; PELL, A.N. Modeling ruminal pH fluctuations: Interactions between meal frequency and digestion rate. **J. Dairy Sci.** 80: 2429-2441. 1997.
- [10] RAZZ, R., GONZÁLEZ, R.; FARÍA, J.; ESPARZA, D.; FARÍA, N. Efecto de la frecuencia e intensidad de defoliación sobre el valor nutritivo de la *Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit. **Rev. Fac. Agron. (LUZ)** 9: 109-114. 1992.
- [11] RAZZ, R.; CLAVERO, T.; VERGARA, J. Cinética de degradación *in situ* de la *Leucaena leucocephala* y *Panicum maximum*. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** XIV(5): 424-430. 2004.
- [12] RODRÍGUEZ-PETIT, A.; CLAVERO, T.; RAZZ, R. Efecto de la altura y la frecuencia de poda en la producción de materia seca de *Acacia mangium* Willd. **Rev. For. Centroame.** 35(3): 38-40. 2001.
- [13] RUIZ, T.E.; FEBLES, G.J.; CASTILLO, E.; JORDAN, H.; GALINDO, J.L.; CHONGO, B.; DE LA C. DELGADO, D.; MEJIAS, R.A.; CRESPO, G.J. Tecnología de Producción Animal Mediante *Leucaena leucocephala* Asociada con Pastos en el 100% del Área de la Unidad Ganadera. Memoria I Congreso latinoamericano sobre agoforestería para la producción agrícola sostenible. (on-line). www.cipav.org.co/redagrofor/memorias99/Memorias.htm 26-06. RuizTE.htm.2006.
- [14] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. (SAS). User's guide, Version 6. 4th Ed. SAS Inst., Inc., Cary, NC. 1990.
- [15] SHELTON, H.M.; JONES, R.J. Opportunities and limitations in *Leucaena*. In: Shelton, H. M., Piggitt, C. M. and Brewbaker, J. L. (Eds.), **Leucaena: Opportunities and Limitations.** ACIAR Proceedings Nº 57: 14-23. 1995.
- [16] STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics.** A biometrical approach. Second edition. McGraw-Hill Book Company, New York, USA. 425 pp. 1980.
- [17] VAN MILGEN, J.; MURPHY, M. R.; BERGER, L.L. A compartmental model to analyze ruminal digestion. **J. Dairy Sci.** 74: 2515-2529. 1991.
- [18] VERGARA-LÓPEZ, J.; ARAUJO-FEBRES, O. Yield, chemical composition and ruminal degradability of *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick at seven clipping ages. Abstract. 2000 Joint Annual Meeting and North-east Section Meeting. **J. Anim. Sci.** 78 (Supl. 1): 270. 2000.
- [19] WALLACE, R. J. Rumen proteolysis and its control. In: Jouany, J. P. (Ed.). **Rumen microbial metabolism and ruminant digestion.** Institut National de la Recherche Agronomique. Paris, France. 131-150 pp. 1991.