

Fermentación *in vitro* y la correlación del contenido nutrimental de leucaena asociada con pasto estrella*

In vitro fermentation and the correlation of the nutritional content of leucaena associated with star grass

Laura Sandoval González¹, Luis Alberto Miranda Romero^{1§}, Alejandro Lara Bueno¹, Maximino Huerta Bravo¹, Miguel Uribe Gómez¹ y Miguel Martínez Martínez¹

¹Posgrado en Producción Animal- Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 38.5, C. P. 56230. Tel: 595 952 1621. (albertomiranda@correo.chapingo.mx; alarab_11@hotmail.com; maximino_h@hotmail.com; miguel2mtz@gmail.com). [§]Autor para correspondencia: albertomiranda@correo.chapingo.mx.

Resumen

Se determinó la fermentación *in vitro*, por la técnica de producción de gas, de *Leucaena leucocephala* (Ll) y *Cynodon nlemfuensis* (Cn) de 35, 42, 49, 56, 63 y 70 días de rebrote (DR) de un sistema silvopastoril intensivo en San Luis Potosí, México, en la época de nortes. Se tomó una muestra de forrajes de lotes distribuidos al azar, con tres repeticiones por DR. Las variables fueron: volumen máximo (V_m ; mL g⁻¹), tasa (S; h⁻¹) y tiempo de retardo (L; h) de producción de gas, y digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS): estas se correlacionaron con el contenido mineral y de FDN, FDA, PC, EE, celulosa y lignina. El V_m , DIVMS y S fueron mayores, y L menor para Ll con respecto a Cn (0.039 vs 0.026 h⁻¹; 258.9 vs 227.1 mL g⁻¹; 63.6 vs 42.8%; y 1.93 vs 5.63 h). Para ambos forrajes V_m , DIVMS y S fueron mayores ($p < 0.05$; 73.23 y 47.98%; 307 y 272 mL g⁻¹; 0.044 y 0.29 h⁻¹) a 35 DR. El DR afectó a la variable fermentación, al pasto Cn mayor que a la leguminosa Ll. Las variables de fermentación y DIVMS se correlacionaron negativamente ($R = -0.681$, $p < 0.01$) con FDA, en ambos forrajes. Para Leucaena, la correlación con EE fue negativa ($R = -0.68$, $p < 0.01$); mientras que para Cn la correlación fue positiva ($R = 0.642$, $p < 0.01$) con PC. Respecto a los minerales, la

Abstract

The *in vitro* fermentation was determined by the technique of gas production of *Leucaena leucocephala* (Ll) and *Cynodon nlemfuensis* (Cn) 35, 42, 49, 56, 63 and 70 days of regrowth (DR) of an intensive silvopastoral system in San Luis Potosi, Mexico, in the windy season. A sample batch of fodder randomized, with three replications was taken by DR. The variables were: maximum volume (V_m ; mL g⁻¹), rate (S; h⁻¹) and delay time (L; h) of gas production, and *in vitro* digestibility of dry matter (DIVMS): these they were correlated with mineral content and FDN, FDA, PC, EE, cellulose and lignin. The V_m , DIVMS and S were higher, and L lower for Ll with respect to Cn (0.039 vs 0.026 h⁻¹; 258.9 vs 227.1 mL g⁻¹; 63.6 vs 42.8%; and 1.93 vs 5.63 h). For both fodder V_m , DIVMS and S were higher ($p < 0.05$; 73.23 and 47.98%; 307 and 272 mL g⁻¹; 0.044 and 0.29 h⁻¹) at 35 DR. The DR affected the fermentation variable, the grass Cn greater than the Ll legume. The variables fermentation and DIVMS were negatively correlated ($R = -0.681$, $p < 0.01$) with FDA in both forages. To Leucaena, the EE was negative correlation ($R = -0.68$, $p < 0.01$); while for Cn it was positive correlation ($R = 0.642$, $p < 0.01$) with PC. Regarding minerals, the correlation was positive ($p < 0.01$) with P for both forages. In the legume,

* Recibido: abril de 2016
Aceptado: junio de 2016

correlación fue positiva ($p < 0.01$) con P para ambos forrajes. En la leguminosa, el K, Fe y Cu se correlacionó positivamente ($p < 0.01$). La DIVMS solo se correlacionó negativamente con la relación Ca:P, para *Lecuaena*. Se concluyó que, acorde a la fermentación de Cn y Ll en un sistema silvopastoril, éstas deben pastorearse a 35 DR, e incrementar en Cn el contenido de PC y de P en Ll, lo cual puede lograrse fertilizando con P e inoculando con micorriza.

Palabras clave: análisis proximal, cinética de producción de gas, fibra.

Introducción

Las especies forrajeras leñosas pueden usarse en sistemas silvopastoriles para la alimentación de rumiantes, son una alternativa para disminuir los costos de producción debido a que reduce el uso de insumos externos (Gil *et al.*, 2005). La asociación de leguminosas arbustivas con pasturas mejora la calidad nutritiva para el ganado de una forma sustentable. La leucaena, por su alta capacidad para fijar nitrógeno, contenido de proteína, valor nutritivo y potencial de producción de materia seca, se ha usado eficientemente para la alimentación animal en el trópico mexicano debido a que mejora la dieta consumida por el ganado, la cual es a base de pastos de calidad nutritiva baja (Shelton *et al.*, 1991). Por otro lado, aunque los forrajes son la fuente principal de minerales para el rumiante, el desbalance mineral en suelos y forrajes del trópico causa un comportamiento productivo y reproductivo pobre de rumiantes en pastoreo (McDowell y Arthington, 2005), pero en los sistemas silvopastoriles la producción de leche y la ganancia diaria de peso incrementan (Ibrahim *et al.*, 2006).

No obstante, con el fin de aplicar un sistema silvopastoril intensivo basado en el uso de *Leucaena leucocephala* asociada con *Cynodon nlemfuensis* mediante pastoreo rotacional (Solorio *et al.*, 2009); es conveniente analizar la asimilación ruminal de tales forrajes en función de la edad del rebrote y el contenido nutrimental, por lo que en esta investigación se determinó, como una primer etapa, la fermentación in vitro por la técnica de producción de gas y su correlación con el contenido mineral y nutritivo de *Leucaena leucocephala* y *Cynodon nlemfuensis* de seis edades de rebrote, durante la época de nortes, las cuales estuvieron asociadas en un sistema silvopastoril en la región huasteca potosina de México.

K, Fe and Cu was positively correlated ($p < 0.01$). It DIVMS only negatively correlated with Ca:P ratio for leucaena. It was concluded that, according to the fermentation of Cn and Ll in a silvopastoral system, they should be grazed 35 DR, and increase in Cn content PC and P in Ll, which can be achieved by fertilizing with P and inoculating mycorrhizal.

Keywords: fiber, gas production kinetics, proximal analysis.

Introduction

The woody forage species in silvopastoral systems can be used for feeding ruminants are an alternative to reduce production costs because it reduces the use of external inputs (Gil *et al.*, 2005). The association of shrubby legumes with pasture improves the nutritional quality for livestock in a sustainable way. The leucaena, for its high ability to fix nitrogen, protein content, nutritional value and potential dry matter production, has been used efficiently for animal feed in the Mexican tropics because it improves the diet consumed by livestock, which is based pastures of low nutritional quality (Shelton *et al.*, 1991). On the other hand, although fodder are the main source of minerals for the ruminant, mineral imbalance in soils and forages in the tropics causes a productive and poor reproductive performance of grazing ruminants (McDowell and Arthington, 2005), but in silvopastoral systems, milk production and increase daily weight gain (Ibrahim *et al.*, 2006).

However, in order to implement an intensive silvopastoral system based on the use of *Leucaena leucocephala* associated with *Cynodon nlemfuensis* rotational grazing by (Solorio *et al.*, 2009), it is worth analyzing the ruminal assimilation of such fodder depending on the age of regrowth and nutrient content, so in this research was determined, as a first step, the in vitro fermentation technique gas production and its correlation with the mineral and nutrient content of *Leucaena leucocephala* and *Cynodon nlemfuensis* six regrowth ages during the windy season, which were associated in a silvopastoral system in the Huasteca potosina region of Mexico.

Materials and methods

The experiment was performed in the silvopastoral module, whose total area is one hectare with 62 rows *Leucaena leucocephala* at a density of 52 000 plants ha⁻¹ (distance

Materiales y métodos

El experimento se realizó en el módulo silvopastoril, cuya área total es de una hectárea con 62 hileras *Leucaena leucocephala* a una densidad de 52 000 plantas ha⁻¹ (distancia entre plantas de 12 cm y 1.6 m entre hileras) asociada con *Cynodon nlemfuensis* entre las hileras. La pradera fue establecida en octubre de 2010 en la Unidad de Producción "El Gargaleote" de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado en Tamuín, San Luis Potosí, México. El clima es cálido sub-húmedo con lluvias en verano, temperatura media anual de 25 °C y la precipitación promedio anual es de 990 mm (García, 1981). El periodo de lluvias va de julio a octubre, la época de nortes de noviembre a febrero y el periodo de secas de marzo a junio. Los suelos del área de estudio son fluvisoles y vertisoles, profundos y bien drenados, con textura limo arcillosa o areno limosa, con pH alcalino superior a 7.5.

Unidad experimental: el módulo se dividió en 18 lotes de 550 m² cada uno (11 x 50 m), con siete hileras de leucaena por lote. Los tratamientos (6) y repeticiones (3) se distribuyeron aleatoriamente. Los tratamientos fueron 35, 42, 49, 56, 63 y 70 días de rebrote a partir de la última poda de la leucaena y del pasto estrella, durante la época de nortes (noviembre, 2011 a enero, 2012). Para el muestreo de forrajes se seleccionaron por lote, tres sitios de 3.2 m² (2 x 1.6 m) sobre las hileras 2, 3 y 5 de leucaena. El muestreo se hizo removiendo material vegetativo de la leucaena (hojas y puntas tiernas de los rebrotes) y del pasto estrella (hojas y tallos) (Jiménez y Ortiz, 2012).

Determinación de rendimiento de forraje: el total de material removido de cada especie se pesó en fresco, se secó a peso constante en una estufa de aire forzado a 65 °C, y se molió con una criba de 2 mm. Con estos datos se estimó los kg de MH y MS por hectárea de cada especie forrajera y total (la suma de ambas).

Digestibilidad y producción de gas *in vitro*: se investigó la cinética de fermentación de ambos forrajes, indirectamente por la técnica de producción de gas (Menke y Steigass, 1988), para lo cual se usaron frascos color ámbar de 125 mL de capacidad a los que se les colocó 0.5 g de MS de cada sustrato (*Leucaena leucocephala* o *Cynodon nlemfuensis*) de los DR ya indicadas. Posteriormente y bajo un flujo continuo de bióxido de carbono (CO₂), a cada frasco se le agregaron 90 mL de inóculo ruminal diluido (1:10) el cual se obtuvo de dos ovinos Rambouillet con cánula ruminal,

between plants 12 cm and 1.6 m between rows) associated with *Cynodon nlemfuensis* between rows. The prairie was established in October 2010 in the Production Unit "The Gargaleote" University Autónoma Chapingo, located in Tamuín, San Luis Potosí, Mexico. The climate is warm sub-humid with summer rainfall, annual average temperature of 25 °C and the average annual rainfall is 990 mm (García, 1981). The rainy season runs from July to October, the windy season from November to February and dry period from March to June. The soils of the study area are fluvisols and vertisols, deep and well drained, textured silt or silty clay sandy, with alkaline pH above 7.5.

Experimental unit: the module was divided into 18 lots of 550 m² each (11 x 50 m), with seven rows of leucaena per batch. The treatments (6) and repetitions (3) they were randomized. The treatments were 35, 42, 49, 56, 63 and 70 days of regrowth from the last pruning of leucaena and star grass during the windy season (November, 2011 to January, 2012). Fodder for sampling were selected batch, three sites of 3.2 m² (2 x 1.6 m) on the rows 2, 3 and 5 of leucaena. The sampling was done by removing vegetative material leucaena (leaves and tender tips of shoots) and star grass (leaves and stems) (Jiménez and Ortiz, 2012).

Determination of forage yield: total material removed from each species was weighed fresh, dried to constant weight in a forced air oven at 65 °C, and ground with a sieve of 2 mm. With these data it was estimated kg of MH and MS per hectare of each species forage and total (sum of both).

Digestibility and gas production *in vitro*: fermentation kinetics of both forages investigated indirectly by the technique of gas production (Menke and Steigass, 1988), for which bottles amber 125 mL capacity were used to which he placed them 0.5 g of MS of each substrate (*Leucaena leucocephala* or *Cynodon nlemfuensis*) of the DR already indicated. Subsequently, under a continuous flow of carbon dioxide (CO₂) to each flask they were added 90 mL of diluted ruminal inoculum (1:10) which was obtained two sheep Rambouillet with ruminal cannula, filtered through 8 layers of cheesecloth and was added at a ratio of 1: 9 to a mineral solution reduced consisting of K₂HPO₄ (0.45 g L⁻¹), KH₂PO₄ (0.45 g L⁻¹), NaCO₃ (0.6 g L⁻¹), (NH₄)₂SO₄ (0.45 g L⁻¹), NaCl (0.9 g L⁻¹), MnSO₄ (0.18 g L⁻¹), CaCl₂ (0.12 g L⁻¹), L-cysteine (0.25 g L⁻¹) y Na₂S (0.25 g L⁻¹).

se filtró a través de ocho capas de tela de gasa y se adicionó en una proporción de 1:9 a una solución mineral reducida compuesta de K_2HPO_4 (0.45 g L⁻¹), KH_2PO_4 (0.45 g L⁻¹), $NaCO_3$ (0.6 g L⁻¹), $(NH_4)_2SO_4$ (0.45 g L⁻¹), $NaCl$ (0.9 g L⁻¹), $MnSO_4$ (0.18 g L⁻¹), $CaCl_2$ (0.12 g L⁻¹), L-cisteína (0.25 g L⁻¹) y Na_2S (0.25 g L⁻¹).

Se incluyeron cuatro frascos blancos sin sustrato, se cerraron herméticamente con un tapón de goma y un aro de aluminio. El exceso de CO_2 de cada frasco se extrajo con el manómetro para igualar la presión a cero y se incubaron en baño maría a 39 °C. La presión de gas de fermentación se midió con el manómetro (0 a 1 kg cm⁻²) a 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 23, 26, 29, 33, 37, 43, 49, 55, 61 y 72 h de incubación. Al final del período de incubación el residuo de cada frasco se filtró a través de papel de filtrado previamente pesado. Los papeles con residuo se secaron a 65 °C por 48 h y se pesaron. Por diferencia de peso se obtuvo la MS residual para determinar la $DIVMS_{72}$ de 72 h de incubación.

Determinación del contenido mineral y nutrientes: se tomaron submuestras molidas de 2 g de cada especie forrajera y cada DR por separado y se secaron totalmente a 105 °C por 12 h. Posteriormente, las muestras se incineraron en una mufla a 500 °C durante 8 horas para cuantificar la proporción de cenizas y materia orgánica (MO) (AOAC, 1990). La cuantificación de Ca, Mg, Na, K, Cu, Zn, Fe y Mn se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica (Fick *et al.*, 1979); el P se determinó utilizando el método colorimétrico (Clesceri *et al.*, 1992); y mediante el método fluorométrico (Tamari *et al.*, 1986). Extracto etéreo (EE) se determinó por el método de Goldsich (AOAC, 2000), nitrógeno total por Kjeldahl (Harris, 1970), con el cual se obtuvo el porcentaje de proteína cruda (PC) multiplicando por 6.25, fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina en H_2SO_4 . El contenido de hemicelulosa y celulosa se estimó por diferencia de FDN y FDA, y FDA y Lignina-permanganato (Robertson y Van Soest, 1981).

Variables analizadas: los valores de presión (kg cm⁻²) se transformaron a volumen de gas (mL g⁻¹ sustrato) con la ecuación de regresión (volumen= presión/0.019). Por un lado, se analizó el volumen fraccional del gas, se observa la gráfica donde podría encontrarse diferencias ($p < 0.05$), para *Leucaena leucocephala* se determinó el volumen fraccional (V_a) de 0 a 12 h mientras que para *Cynodon nlemfuensis* fueron (V_a) de 0 a 14 h, (V_b) de 16 a 33 h y (V_c) de 37 a 61 h de incubación. Por otro lado, se obtuvo el volumen acumulado de gas de 0 a 72 h de incubación, y se estimaron

The bottles, including four white bottles without substrate were sealed with a rubber stopper and aluminum ring. Excess CO_2 each flask was extracted with the equalize pressure gauge to zero and incubated in water bath at 39 °C. The gas pressure fermentation was measured with the pressure gauge (0 to 1 kg cm⁻²) at 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 23, 26, 29, 33, 37, 43, 49, 55, 61 and 72 h incubation. At the end of the incubation period each bottle residue was filtered through pre-weighed paper filter. The papers with residue dried at 65 °C for 48 h and weighed. By weight difference the MS residual was obtained to determine the $DIVMS_{72}$ of 72 h of incubation.

Determination of mineral content and nutrients: ground subsamples of 2 g of each forage species and each DR were made separately and completely dried at 105 °C for 12 h. The samples were incinerated in a muffle furnace at 500 °C for 8 h, to quantify the proportion of ash and organic matter (MO) (AOAC, 1990). Quantification of Ca, Mg, Na, K, Cu, Zn, Fe and Mn was performed by atomic absorption spectrophotometry (Fick *et al.*, 1979); P was determined using the colorimetric method (Clesceri *et al.*, 1992); and by fluorometric method (Tamari *et al.*, 1986). Ether extract (EE) was determined by the method Goldsich (AOAC, 2000), total nitrogen by Kjeldahl (Harris, 1970), with which the percentage of crude protein (CP) was obtained by multiplying by 6.25, neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (FDA) and lignin in H_2SO_4 . The hemicellulose and cellulose content was estimated by difference of FDN and FDA, and FDA and Lignin-permanganate (Robertson and Van Soest, 1981).

Variables analyzed: pressure values (kg cm⁻²) were converted to gas volume (mL g⁻¹ substrate) with the regression equation (volume= pressure/0.019). On the one hand, the fractional volume of gas was analyzed, the graph where could find differences ($p < 0.05$) for *Leucaena leucocephala* fractional volume (V_a) from 0 to 12 h was determined while for *Cynodon nlemfuensis* observed were (V_a) from 0 to 14 h, (V_b) from 16 to 33 h and (V_c) of 37 to 61 h incubation. On the other hand, the accumulated volume of gas from 0 to 72 h of incubation was obtained, and the kinetic parameters of gas production were estimated: maximum volume (V_m ; mL g⁻¹), rate (S ; h⁻¹) and delay time (L ; h), for the logistic model $V = V_m / (1 + e^{(2-4S)(T-L)})$ (Schofield and Pell, 1995) and using the statistical package.

Other variables were the digestibility *in vitro* of MS (DMSIV; %). Forage MS yield (kg MS ha⁻¹) of vegetative material collected at sites and production efficiency of gas (mL g⁻¹

los parámetros de la cinética de producción de gas: volumen máximo (V_m ; mL g^{-1}), tasa (S ; h^{-1}) y tiempo de retardo (L ; h), para el modelo logístico $V = V_m / (1 + e^{(2-4S)(T-L)})$ (Schofield y Pell, 1995) y utilizando el paquete estadístico SAS.

Otras variables fueron la digestibilidad *in vitro* de la MS (DMSIV; %). Rendimiento de MS de forrajes (kg MS ha^{-1}) del material vegetativo colectado en los sitios y, eficiencia de producción de gas (mL g^{-1} de sustrato digerido). Además, se estimó la digestibilidad de la materia orgánica y energía metabolizable con los modelos matemáticos:

$$\text{DMO (\%)} = 14.88 + 0.889\text{GP} + 0.45\text{PC} + 0.0651\text{CEN} \quad (R^2 = 0.92)$$

$$\text{EM (MJ kg}^{-1}\text{MS)} = 2.20 + 0.136\text{GP} + 0.057\text{PC} \quad (R^2 = 0.94).$$

Donde: GP= gas producido por 0.2 g de sustrato en 24 h; PC= contenido de proteína cruda del sustrato; CEN= cantidad de cenizas del sustrato (Sallam *et al.*, 2007).

Diseño experimental y análisis estadístico: se hizo un análisis de varianza con un diseño completamente al azar para seis tratamientos y tres repeticiones, utilizando el paquete estadístico y la prueba de comparación múltiple de medias Tukey (SAS, 2004).

Resultados

Los valores de los parámetros V_m , L y S se muestran en el Cuadro 1. *L. leucocephala* se fermenta más pronta ($L = 1.92$ h) y rápidamente ($S = 0.039 \text{ h}^{-1}$) que *C. nlemfuensis* ($S = 0.026 \text{ h}^{-1}$; $L = 5.63$ h). Igualmente, su potencial de fermentación dado por el volumen máximo de gas (V_m), fue mayor para *L. leucocephala* ($V_m = 259.8 \text{ mL g}^{-1}$) respecto a *C. nlemfuensis* ($V_m = 227.1 \text{ mL g}^{-1}$). En contraste, la eficiencia de producción de gas fue mayor para *C. nlemfuensis* que para *L. leucocephala* (897.29 y 771.4 mL g^{-1} de MS digerida). Con respecto a la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) de los forrajes, la *L. leucocephala* tuvo una digestibilidad mayor que el *C. nlemfuensis* (63.61 vs. 42.88 %).

Los valores estimados de DMO y EM (Cuadro 1) mediante modelos matemáticos (Sallam *et al.*, 2007) mostraron que la digestibilidad de la materia orgánica fue similar a la DIVMS para ambos forrajes, manteniéndose la diferencia entre ellos. La energía metabolizable fue mayor en *L. leucocephala* que

sustrato digerido). In addition, organic matter digestibility and metabolizable energy with mathematical models were estimated:

$$\text{DMO (\%)} = 14.88 + 0.889\text{GP} + 0.45\text{PC} + 0.0651\text{CEN} \quad (R^2 = 0.92)$$

$$\text{EM (MJ kg}^{-1}\text{MS)} = 2.20 + 0.136\text{GP} + 0.057\text{PC} \quad (R^2 = 0.94).$$

Where: GP= gas produced by 0.2 g of substrate in 24 h; PC= crude protein content of the substrate; CEN= amount of ash substrate (Sallam *et al.*, 2007).

Experimental design and statistical analysis: was an analysis of variance with a completely randomized design for six treatments and three repetitions, using the statistical package and multiple comparison test of Tukey half (SAS, 2004).

Results

The values of V_m , L and S parameters are shown in Table 1. *L. leucocephala* ferments earliest ($L = 1.92$ h) and quickly ($S = 0.039 \text{ h}^{-1}$) that *C. nlemfuensis* ($S = 0.026 \text{ h}^{-1}$; $L = 5.63$ h). Similarly, fermentation potential given the maximum volume of gas (V_m) was higher for *L. leucocephala* ($V_m = 259.8 \text{ mL g}^{-1}$) with respect to *C. nlemfuensis* ($V_m = 227.1 \text{ mL g}^{-1}$). In contrast, production efficiency was higher for gas *C. nlemfuensis* than *L. leucocephala* (897.29 and 771.4 mL g^{-1} of MS digested). With respect to the *in vitro* dry matter digestibility (DIVMS) of fodder, the *L. leucocephala* had a higher digestibility than the *C. nlemfuensis* (63.61 vs 42.88%).

The estimated values of DMO and EM (Table 1) using mathematical models (Sallam *et al.*, 2007) showed that the organic matter digestibility was similar to DIVMS for both forages, keeping the difference between them. The metabolizable energy was higher in *L. leucocephala* than *C. nlemfuensis* (2.21 and 1.4 Mcal kg^{-1} MS). On the other hand, regarding the age of regrowth, both forages 35 DR had better fermentation parameters ($p < 0.05$) greater V_m , S , DIVMS, DMO, MS and lower L (Table 1).

Based on Figure 1, it was determined that *L. leucocephala* reaches its highest fermentation 20 h before *C. nlemfuensis*. The time to achieve the VM in *L. leucocephala* was 32 h and 51 h for *C. nlemfuensis*.

la de *C. nlemfuensis* (2.21 y 1.4 Mcal kg⁻¹ MS). Por otro lado, respecto a la edad de rebrote, ambos forrajes de 35 DR tuvieron los parámetros de fermentación mejores ($p < 0.05$): mayor Vm, S, DIVMS, DMO, EM y menor L (Cuadro 1).

In *L. leucocephala* rate (S) of forages between 35 and 49 are similar ($p > 0.05$), but the 35 of DR is higher ($p < 0.05$) than fodder 56, 63 and 70 DR. The delay time (L) was not different ($p > 0.05$) between DR, and the potential of fermentation

Cuadro 1. Parámetros (S, L y Vm) de la cinética de producción de gas de fermentación, DIMS, DMO y EM de *Leucaena leucocephala* (LI) y *Cynodon nlemfuensis* (Cn) de seis periodos de rebrote.

Table 1. Parameters (S, L and Vm) of the kinetics of fermentation gas production, DIMS, DMO and EM of *Leucaena leucocephala* (LI) and *Cynodon nlemfuensis* (Cn) of six periods of regrowth.

Días de rebrote	S (h ⁻¹)		L (h)		Vm (mLg ⁻¹)		DIMS (%)		DMO (%)		EM (Mcal kg ⁻¹)	
	LI	Cn	LI	Cn	LI	Cn	LI	Cn	LI	Cn	LI	Cn
35	0.044 ^A	0.029 ^A	1.84 ^A	4.98 ^A	307.1 ^A	227.4 ^A	68.48 ^A	48.08 ^A	73.23 ^A	47.98 ^A	2.6 ^A	1.7 ^A
42	0.041 ^{AB}	0.027 ^B	2.05 ^A	5.56 ^A	244.2 ^B	235.4 ^B	61.59 ^B	41.31 ^{BC}	62.39 ^B	42.14 ^B	2.2 ^B	1.5 ^B
49	0.039 ^{AB}	0.03 ^A	2.02 ^A	6.54 ^A	265.1 ^B	247.5 ^{AB}	61.74 ^B	45.53 ^{AB}	63.85 ^B	43.83 ^B	2.2 ^B	1.5 ^B
56	0.037 ^B	0.024 ^C	1.67 ^A	5.09 ^A	250.1 ^B	203.3 ^C	64.72 ^{AB}	41.78 ^{BC}	61.14 ^B	36.62 ^{CD}	2.1 ^B	1.3 ^C
63	0.038 ^B	0.025 ^C	1.7 ^A	6.19 ^A	256.9 ^B	206.4 ^C	64.72 ^{AB}	39.48 ^C	62.7 ^B	35.44 ^D	2.2 ^B	1.2 ^C
70	0.037 ^B	0.026 ^C	2.27 ^A	5.43 ^A	230.2 ^B	197.9 ^C	60.36 ^B	41.14 ^{BC}	59.26 ^B	37.75 ^C	2 ^B	1.3 ^C
Prom	0.039	0.026	1.92	5.63	258.9	227.1	63.61	42.88	63.76	40.62	2.2	1.4

^{ABC}Valores con literal distinta en la misma columna son diferentes ($p < 0.05$). S= tasa de producción de gas; L= fase lag o tiempo de retardo; Vm= volumen máximo de gas; DIMS= digestibilidad *in vitro* de la materia seca a 72 h de incubación; DMO= digestibilidad de la materia orgánica; DMO= $14.88 + 0.889GP + 0.45CP + 0.651XA$, $R^2 = 0.92$. Donde: GP= producción de gas a 24 h, CP= proteína cruda, XA= cenizas. EM= energía metabolizable; EM= (MJ/KgDM)= $2.2 + 0.136GP + 0.057CP$, $R^2 = 0.94$; donde GP= producción de gas a 24 h; EM (Mcal kg⁻¹)= EM (MJ)*0.238.

Con base en la Figura 1, se pudo determinar que *L. leucocephala* alcanza su mayor fermentación 20 h antes que *C. nlemfuensis*. El tiempo para alcanzar las VM en *L. leucocephala* fue de 32 h y de 51 h para *C. nlemfuensis*.

given by Vm and DIVMS was higher ($p < 0.05$) only for the *L. leucocephala* of 35 DR, regarding others DR (Table 1, Figure 1). A similar behavior was obtained for DMO and EM of *L. leucocephala*, which were higher ($p < 0.05$) for plants 35 DR.

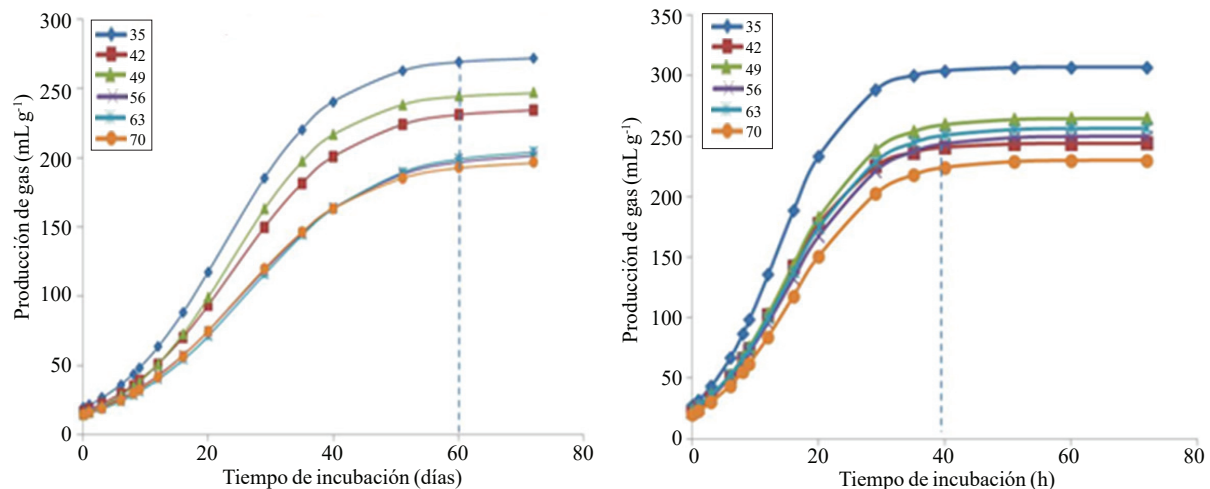


Figura 1. Producción de gas durante la fermentación *in vitro* de (A) *Cynodon nlemfuensis*; y (B) *Leucaena leucocephala* de 35, 42, 49, 56, 63 y 70 días de rebrote, por bacterias ruminales. La línea discontinua indica el tiempo en el que se alcanza la producción máxima de gas.

Figure 1. Production of gas during *in vitro* fermentation of (a) *Cynodon nlemfuensis*; and (b) *Leucaena leucocephala* 35, 42, 49, 56, 63 and 70 days regrowth, by ruminal bacteria. The dashed line indicates the time at which the maximum gas production is achieved.

En *L. leucocephala* la tasa (S) de los forrajes entre 35 y 49 DE son similares ($p > 0.05$), pero la de 35 DR es mayor ($p < 0.05$) a la de los forrajes de 56, 63 y 70 DR. El tiempo de retardo (L) no fue diferente ($p > 0.05$) entre DR, y el potencial de fermentación dado por Vm y de DIVMS, fue mayor ($p < 0.05$) solo para la *L. leucocephala* de 35 DR, con respecto a los demás DR (Cuadro 1, Figura 1). Un comportamiento similar se obtuvo para la DMO y EM de *L. leucocephala*, donde fueron mayores ($p < 0.05$) para las plantas de 35 DR.

Aunque, al igual que *L. leucocephala*, las plantas de *C. nlemfuensis* con 35 DR, tuvieron los mejores parámetros de fermentación y DIVMS, se observó que los DR mayores a 35 días afecta más el comportamiento fermentativo de éste pasto que el de la leguminosa, de tal manera que se pudo conformar tres grupos de: alta (35 DR), media (42 y 59 DR) y baja (56, 63 y 70 DR) fermentación, para *C. nlemfuensis* (Figura 1A vs 1B).

Lo anterior se reflejó en el volumen fraccional de gas (Figura 2), por lo regular los forrajes presentan tres fracciones de fermentación: de rápida, media y lenta fermentación; atribuidas a azúcares y oligosacáridos solubles, polisacáridos de reserva como almidón, dextranas, pectina, y polisacáridos de pared celular (celulosa y hemicelulosa ligadas a lignina), respectivamente. *L. leucocephala* solo mostró un pico de alta producción fraccional de gas durante el periodo de 0 a 12 h (Figura 2B y Cuadro 2), el cual fue atribuido a azúcares y polisacáridos de reserva; en tanto que *C. nlemfuensis* mostró tres picos de mayor producción fraccional de gas: 0 a 14, 16 a 33 y 37 a 61 h de incubación (Figura 2A y Cuadro 2).

Although, like *L. leucocephala*, plants *C. nlemfuensis* with 35 DR, had the best fermentation parameters and DIVMS, it was observed that the DR to 35 days older affects fermentative behavior of this grass than the legume, so that it could form three groups: high (35 DR), medium (42 and 59 DR) and low (56, 63 and 70 DR) fermentation to *C. nlemfuensis* (Figure 1A vs 1B).

This was reflected in the fractional volume of gas (Figure 2). Usually have three fractions fodder fermentation: fast, medium and slow fermentation; sugars and oligosaccharides attributed to soluble reserve polysaccharides such as starch, dextran, pectin and cell wall polysaccharides (cellulose and hemicellulose linked to lignin), respectively. *L. leucocephala* showed a peak only high fractional gas production during the period of 0 to 12 h (Figure 2B and Table 2), which was attributed to sugars and polysaccharides reserve; while *C. nlemfuensis* showed three peaks fractional greater gas production: 0 to 14, 16 to 33 and 37 to 61 h incubation (Figure 2A and Table 2).

The fractional volume of 0 to 14 h, in *C. nlemfuensis* was higher ($p < 0.05$) in DR 35 d followed by 42 and 49 d and finally by 56, 63 and 70 d (Table 2). A similar trend was found for the other two fractions (16 to 33 and 37 to 61 h), where DR plants produced lower gas and therefore less fermented (Table 2). In *L. leucocephala* only in the DR of 35 days compared with the other DR distinguished analyzed.

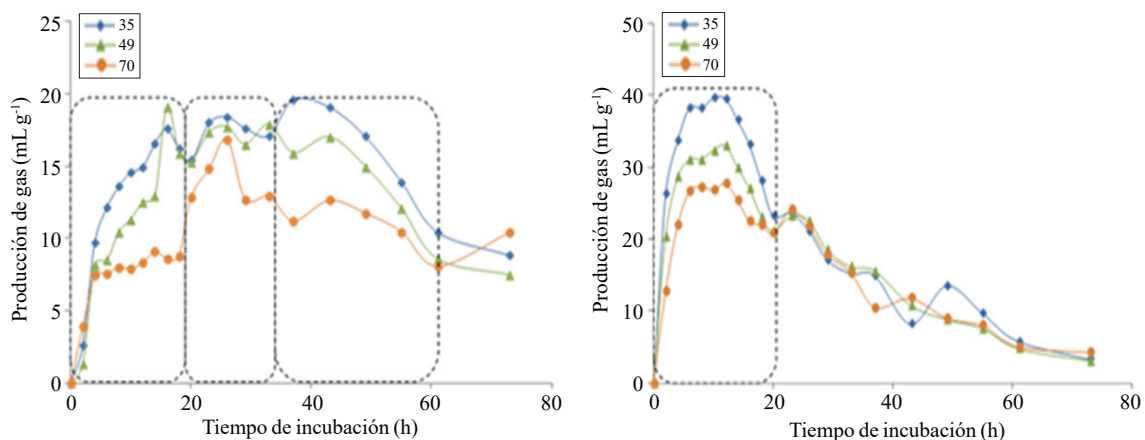


Figura 2. Producción fraccional de gas de fermentación *in vitro* de (A) *Cynodon nlemfuensis*; y (B) *Leucaena leucocephala* de 35, 49 y 70 días de rebrote, por bacterias ruminales. Los recuadros en líneas discontinuas indican las fracciones de tiempo de rápida, media y lenta fermentación e indican los periodos de gas fraccional.

Figure 2. Fractional gas production *in vitro* fermentation of (A) *Cynodon nlemfuensis*; and (B) *Leucaena leucocephala* 35, 49 and 70 days of regrowth, by ruminal bacteria. The boxes in dotted lines indicate the fractions of time fast, medium and slow fermentation and indicate the periods of fractional gas.

Cuadro 2. Volumen fraccional acumulado de gas producido durante la fermentación *in vitro* de *C. nlemfuensis* (PE) y *L. leucocephala* (LE) en función de la edad de rebrote.

Table 2. Volume fractional cumulative gas produced during *in vitro* fermentation of *C. nlemfuensis* (PE) and *L. leucocephala* (LE) depending on the age of regrowth.

Días de rebrote	Volumen fraccional acumulado en periodos (mL g ⁻¹)			
	PE 0-14 h	PE 16-33 h	PE 37-61 h	LE 0-12 h
35	82.56 ^A	115.77 ^A	73.26 ^A	144.72 ^A
42	63.87 ^B	98.59 ^B	69.65 ^{AB}	109.86 ^B
49	62.96 ^B	116.48 ^A	66.27 ^{ABC}	114.38 ^B
56	50.22 ^C	85.34 ^{BC}	57.25 ^{CD}	106.81 ^B
63	50.54 ^C	84.33 ^C	60.19 ^{BCD}	111.23 ^B
70	50.54 ^C	84.81 ^C	52.33 ^D	93.62 ^B

^{A, B, C} = Valores con literal distinta en la misma columna son diferentes ($p < 0.05$).

El volumen fraccional de 0-14 h, en *C. nlemfuensis* fue mayor ($p < 0.05$) en el DR de 35 d seguida por las de 42 y 49 d y, finalmente por las de 56, 63 y 70 d. Una tendencia similar se encontró para las otras dos fracciones (16 a 33 y 37 a 61 h), en el que las plantas de mayor DR produjeron menor gas y, por consiguiente, se fermentaron menos (Cuadro 2). En *L. leucocephala* solo se distingue la DR de 35 días comparándola con el resto de los DR analizadas.

La DMO estimada con el modelo matemático mostró un comportamiento similar a la DIVMS calculada (Cuadro 1). Para ambos forrajes, la DMO fue mayor ($p < 0.05$) a 35 DR, en leucaena sólo las plantas de 35 DR tuvieron la DMO mayor que las los otros DR, mientras que en *C. nlemfuensis* se formaron más grupos de acuerdo con la DMO. La EM mantuvo igual ($p > 0.05$) en leucaena independientemente los DR de 42 a 70 ($p > 0.05$), pero en *C. nlemfuensis* la EM disminuyó conforme los DR fueron mayores (Cuadro 1).

Las correlaciones significativas ($p < 0.01$) entre las variables de la cinética de fermentación (Vm, S y L), fraccional y DIVMS, con los nutrientes orgánicos y minerales, para *Cynodon nlemfuensis* y *Leucaena leucocephala* se muestran en los Cuadros 3 y 4, respectivamente.

The DMO estimated with the mathematical model showed a similar to DIVMS calculated (Table 1) behavior. For both forages, DMO was higher ($p < 0.05$) at 35 DR, in leucaena only 35 DR plants had the highest DMO than other DR (Table 1), while in *C. nlemfuensis* are more groups formed according to the DMO. The EM remained the same ($p > 0.05$) in leucaena independently the DR of 42 to 70 ($p > 0.05$), but decreased *C. nlemfuensis* the EM were higher as the DR (Table 1).

Significant correlations ($p < 0.01$) between variables fermentation kinetics (Vm, S and L), fractional and DIVMS, with organic nutrients and minerals to *Cynodon nlemfuensis* and *Leucaena leucocephala* shown in Tables 3 and 4, respectively.

The PC is the only nutritional component is positively correlated ($R = 0.566$ to 0.675 , $p < 0.02$) with variables fermentation and DIVMS, but only in *Cynodon nlemfuensis*. The FDA, FDN, cellulose and lignin are negatively correlated ($p < 0.03$) with these variables. It is noteworthy that the FDA, in both forages, and lignin in leucaena are the highest correlation (R of -0.528 to -0.758 ; Tables 3 and 4). It is also noteworthy that only cellulose is negatively correlated with *L. leucocephala* and not *C. nlemfuensis*.

Cuadro 3. Correlaciones significativas para las variables de fermentación y contenido de nutrientes de *Cynodon nlemfuensis*.
Table 3. Significant correlations variables for fermentation and nutrient content of *Cynodon nlemfuensis*.

Nutrimento	Volumen fraccional de gas acumulado en periodos			DIVMS y parámetros de la cinética de producción de gas		
	0 a 14 h	16 a 33 h	37 a 61 h	Vm	S	DIV
PC	0.675	0.566	0.414	0.591	0.647	0.642
<i>p</i>	0.002	0.014	0.088	0.01	0.004	0.004
FDA	-0.758	-0.612	-0.528	-0.681	-0.648	-0.614
<i>p</i>	0.001	0.007	0.024	0.002	0.004	0.007
Fósforo	0.553	0.542	0.36	0.536	0.571	0.701
<i>p</i>	0.017	0.02	0.142	0.022	0.013	0.001
Selenio	-0.229	-0.43	-0.412	-0.358	-0.381	-0.256
<i>p</i>	0.361	0.075	0.089	0.145	0.118	0.305

p=probabilidad: altamente significativa (<0.01), significativa (0.01<*p*<0.1), no significativa (*p*>0.1) S= tasa de producción de gas; L= fase lac ó tiempo de retardo; Vm= volumen máximo de gas; DIVMS= digestibilidad *in vitro* de la materia seca a 72 h de incubación.

Cuadro 4. Correlaciones significativas para las variables de fermentación y nutrientes de *Leucaena leucocephala*.
Table 4. Significant correlations variables for fermentation and nutrient *Leucaena leucocephala*.

Nutrimento	Vfa 0 a 12 h	Vm	S	DIVMS
EE	-0.333	-0.225	-0.68	-0.1855
<i>p</i>	0.177	0.369	0.002	0.461
FDN	-0.526	-0.444	-0.621	-0.427
<i>p</i>	0.025	0.065	0.006	0.0772
FDA	-0.652	-0.624	-0.652	-0.5633
<i>p</i>	0.003	0.006	0.003	0.0149
Celulosa	-0.52	-0.585	-0.221	-0.7009
<i>p</i>	0.027	0.011	0.379	0.0012
Lignina	-0.707	-0.635	-0.891	-0.4356
<i>p</i>	0.001	0.005	0.0001	0.0708
Fósforo	0.5867	0.55	0.61	0.527
<i>p</i>	0.0105	0.018	0.007	0.025
Potasio	0.593	0.523	0.643	0.389
<i>p</i>	0.0095	0.026	0.004	0.11
Sodio	0.5731	0.599	0.545	0.451
<i>p</i>	0.0129	0.009	0.019	0.06
Fierro	0.3669	0.326	0.409	0.177
<i>p</i>	0.1342	0.1864	0.092	0.482
Cobre	0.495	0.361	0.542	0.449
<i>p</i>	0.037	0.142	0.02	0.062
Relación Ca:P	-0.423	-0.424	-0.324	-0.524
<i>p</i>	0.08	0.079	0.189	0.026

p=probabilidad: altamente significativa (<0.01), significativa (0.01<*p*<0.1), no significativa (*p*>0.1) S= tasa de producción de gas; L= fase lac ó tiempo de retardo; Vm= volumen máximo de gas; DIVMS= digestibilidad *in vitro* de la materia seca a 72 h de incubación.

La PC es el único componente nutritivo que se correlaciona positivamente ($R=0.566$ a 0.675 , $p<0.02$) con las variables de fermentación y DIVMS, pero solo en *Cynodon nlemfuensis*. La FDA, FDN, Celulosa y Lignina se correlacionan negativamente ($p<0.03$) con dichas variables. Es de destacar que la FDA, en ambos forrajes, y la lignina en leucaena son los de mayor correlación (R de -0.528 a -0.758 ; Cuadros 3 y 4). También es de resaltar que la celulosa solo se correlacionó negativamente con *L. leucocephala* y no con *C. nlemfuensis*. Respecto a los minerales, la relación Ca:P se correlacionó negativamente ($R= -0.524$; $p= 0.026$) con la DIVMS de *L. leucocephala*, aunque también hubo una tendencia de correlación negativa ($R=0.424$; $p= 0.08$) con el volumen de gas (V_m y V_0-12). Con *C. nlemfuensis*, el selenio también mostró una tendencia de correlación negativa ($R= 0.43$ y -0.412 ; $p= 0.075$ y 0.089) para con la producción de gas fraccional de 16 a 32 h, y de 37 a 61 h.

El fósforo se correlacionó positivamente en ambos forrajes ($R= 0.536$ a 0.701 ; $p< 0.03$). La fermentación y DIVMS de *L. leucocephala* fue más sensible al contenido de Fe, Na, K y Cu, porque mostraron una correlación positiva (Cuadro 4).

Discusión

En virtud de que las muestras *L. leucocephala* fueron menos fibrosas y tuvieron una composición más rica en componentes químicos, su fermentación y DIVMS fue mayor a la de *C. nlemfuensis*. Entre las razones de que *L. leucocephala* fuera más fermentable y digestible, es que este forraje compone el estrato alto del sistema silvopastoril; mientras que *C. nlemfuensis* desarrolla en el estrato bajo y la incidencia de luz solar es menor al del estrato alto. Este hecho se acrecienta conforme los DR son mayores, y la incidencia de luz al estrato bajo se reduce más, debido a la altura y espesor de la copa mayores que alcanzan las plantas de *L. leucocephala*. Es por esta razón que tanto la DIVMS como las variables de producción de gas por la fermentación, prácticamente no varían ($p> 0.05$) para *L. leucocephala*, pero se reducen ($p< 0.05$) en *C. nlemfuensis*. Esto se corroboró con el volumen fraccional de gas (Figura 2) donde se apreció que el mayor volumen de gas, en *L. leucocephala*, es del material de fácil fermentación (menos de 20 h de incubación); mientras que en *C. nlemfuensis* la fracción fibrosa (>40 h de fermentación) produce más gas que con leucaena (Figura 2).

Regarding minerals, Ca:P ratio was negatively correlated ($R= -0.524$; $p= 0.026$) with the DIVMS of *L. leucocephala*, although there was a trend of negative correlation ($R= 0.424$; $p= 0.080$) with the gas volume (V_m and V_0-12). With *C. nlemfuensis*, selenium also showed a trend negative correlation ($R= 0.430$ and -0.412 ; $p= 0.075$ and 0.089) for the production of fractional gas 16 to 32 h, and 37 to 61 h.

The phosphorus was positively correlated in both forages ($R= 0.536$ to 0.701 ; $p< 0.03$). Fermentation and DIVMS of *L. leucocephala* was more sensitive to the content of Fe, Na, K and Cu, because they showed a positive correlation (Table 4).

Discussion

Under the *L. leucocephala* samples were less fibrous and had a composition richer in chemicals, fermentation and DIVMS was higher than that of *C. nlemfuensis*. Among the reasons that *L. leucocephala* was more fermentable and digestible, it is that this feed comprises the upper stratum of silvopastures; while *C. nlemfuensis* develops in the lower stratum and the incidence of sunlight is less than the upper stratum. This fact increases as the DR are higher, and the incidence of light to the lower stratum is further reduced due to the height and thickness of the largest glass reaching *L. leucocephala* plants. It is for this reason that both the variables DIVMS gas production by fermentation, practically do not vary ($p> 0.05$) for *L. leucocephala*, but are reduced ($p< 0.05$) in *C. nlemfuensis*. This was corroborated by the fractional volume of gas (Figure 2) where it was observed that the greatest volume of gas in *L. leucocephala* is easily fermentable material (less than 20 h of incubation); while in *C. nlemfuensis* the fibrous fraction (over 40 h of fermentation) produces more gas than with leucaena (Figure 2).

The metabolizable energy estimated with mathematical models are compared to those calculated by other authors for these same fodder (Maya *et al.*, 2005). Although we must continue evaluating these mathematical models to determine their reliability, data obtained in this research are suitable for working conditions.

La energía metabolizable estimada con los modelos matemáticos se comparan a los calculados por otros autores para estos mismos forrajes (Maya *et al.*, 2005). Apesar de que hay que continuar evaluando dichos modelos matemáticos para determinar su confiabilidad, los datos obtenidos en esta investigación son apropiados para las condiciones de trabajo.

Al igual que en otros trabajos, la FDA se correlacionó negativamente con la fermentación y digestibilidad de los forrajes, debido a que este componente químico contiene lignina y celulosa, esta última puede contener mayor proporción de la forma cristalina que de la amorfa, los cuales sirven de impedimento físico para la penetración y actividad de las enzimas fibrolíticas. Parece ser que la celulosa de *C. nlemfuensis* es más fermentable que *L. leucocephala* dado que, en esta última se correlacionó negativamente con las variables de fermentación y, no hubo correlación en *C. nlemfuensis*.

Muchos de los minerales intervienen en funciones celulares importantes como en el transporte de nutrimentos a través de la membrana, la conformación de estructuras, transporte de electrones y como cofactores en la actividad enzimática. En este sentido es factible que el contenido de minerales en los forrajes pudieran afectar la actividad fermentativa de los microorganismos ruminales; de tal modo que se encontraron correlaciones positivas ($p < 0.05$) con varios minerales (P, K, Na, Fe y Cu) y solo hubo una tendencia ($p < 0.1$) de correlación negativa con selenio y Ca:P, en *C. nlemfuensis* (Cuadro 3) y *L. leucocephala* (Cuadro 4). En el caso del selenio la correlación se encontró con el volumen de las fracciones de media y lenta fermentación (V_{16-33} , V_{37-61}), correspondientes a polisacáridos de reserva y fibrosos, pero no con la DIVMS, S, Vm y V_{0-14} (Cuadro 3). Lo que indica que él Se no afecta la actividad enzimática de las enzimas de la digestión ni de la fermentación de la fracción soluble.

Por el contrario la relación Ca:P si afecta la digestibilidad. Existen reportes de mediados de siglo pasado que indican (Burroughs *et al.*, 1951) que demuestran que elementos como Fe, Na, K, Ca afectan la fisiología de las bacterias ruminales. Mucho se ha investigado sobre el efecto de minerales en la actividad, fisiología, digestión de celulosa por microorganismos ruminales, se ha llegado a estimar las concentraciones apropiadas para optimar dicha actividad, o los niveles tóxico, muy pocos trabajos han investigado la liberación de tales minerales durante la digestión de los

As in other studies, the FDA was negatively correlated with fermentation and digestibility of forages, because this chemical component contains lignin and cellulose, the latter may contain greater proportion of the crystalline form of amorphous, which serve physical impediment to the penetration and activity of enzymes fibrolytic. It seems that the cellulose *C. nlemfuensis* is more fermentable than the *L. leucocephala* since in the latter was negatively correlated with variables fermentation and no correlation in *C. nlemfuensis*.

Many of the minerals involved in important cellular functions and nutrient transport through the membrane, the formation of structures and electron transport as cofactors in enzymatic activity. In this sense it is possible that the mineral content of forages might affect the fermentative activity of ruminal microorganisms, so that positive correlations ($p < 0.05$) with various minerals (P, K, Na, Fe and Cu) and there was only a trend ($p < 0.1$) negative correlation with selenium and Ca:P, in *C. nlemfuensis* (Table 3) and *L. leucocephala* (Table 4). In the case of selenium correlation was found with the volume fractions of medium and slow fermentation (V_{16-33} , V_{37-61}), for reserve polysaccharides and fibrous, but not with the DIVMS, S, Vm ni V_{0-14} (Table 3). It is indicating that the enzyme is not affect the activity of enzymes digestion or fermentation of soluble faction.

Conversely the Ca:P if it affects digestibility. There are reports of mid last century that indicate (Burroughs *et al.*, 1951) show that elements such as Fe, Na, K, Ca affect the physiology of ruminal bacteria. Much research has been on the effect of minerals in the activity, physiology, cellulose digestion by rumen microorganisms, has come to estimate appropriate to optimize said activity concentrations, or toxic levels, very few studies have investigated the release of such minerals during digestion of forages and its effect on microbial activity, so this research provides evidence that the mineral content in forages may be related to the fermentative activity of rumen microorganisms; however in need for more research on the matter and determine its effect on *in vivo* and *in situ* systems, as this could be determined by the mineral composition of the rumen and this in turn by the origin or region where the crop was grown consuming and the formulation of diets in which mineral mixes are included.

forrajes y su efecto en la actividad microbiana, por lo que la presente investigación da evidencia de que el contenido de minerales en los forrajes puede estar relacionado con la actividad fermentativa de los microorganismos del rumen; no obstante, es necesario realizar más investigaciones al respecto y determinar su efecto en sistemas *in vivo* e *in situ*, ya que esto pudiera estar determinado por la composición mineral del rumen y este a su vez por el origen o región donde se cultivó el forraje que consume y la formulación de las dietas en las que se incluyen mezclas minerales.

Conclusión

La fermentación y digestibilidad *in vitro* por consorcios microbianos del rumen, de Cn y Ll cultivados en un sistema silvopastoril, están determinadas por los DR. Dado que la fermentación *C. nlemfuensis* es más afectada por DR mayores, éste forraje determina los DR a los que debería pastorearse el sistema (35 a 42 DR), y para estimular su utilización ruminal se sugiere buscar alternativas de manejo para incrementar el contenido de PC en Cn y de P en Ll, lo cual puede lograrse fertilizando con P e inoculando con micorriza, dada la alta correlación que se encontró en esta investigación, entre las variables de fermentación y digestibilidad con el contenido de éstos nutrimentos.

Literatura citada

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Method 930.04, 955.04, 930.05. USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Burroughs, W.; Latona, A.; DePaul, P.; Gerlaugh, P. and Bethke, R. M. 1951. Mineral influences upon urea utilization and cellulose digestion by rumen microorganisms using the artificial rumen technique. *Journal of Animal Science*. 10: 693-705
- Clesceri, S. L.; Greenberg, E. A. y Trusseli, R. R. 1992. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Ed. Díaz Santos. España. 187-195 pp.
- Fick, K. R.; McDowell, L. R.; Miles, P. H.; Wilkinson, N. S.; Funk, J. D.; Conrad, J. H. and Valdivia, R. 1979. Métodos de análisis de minerales para tejidos de plantas y animales. 2^{da} ed. Universidad de Florida, Gainesville, Florida, 358 p.
- García, E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Tercera edición. Instituto de Geografía, UNAM. Distrito Federal, México. 252 p.
- Gil, J. L.; Espinoza, Y. y Obispo, N. 2005. Relaciones suelo-planta-animal en sistemas silvopastoriles. *Revista digital del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias*. 9: 20-26.
- Harris, L. 1970. Métodos para el análisis y evaluación biológica de los alimentos para animales. Universidad de Florida. Gainesville, Florida.

Conclusion

Fermentation and *in vitro* digestibility of rumen microbial consortia, Cn and Ll grown in a silvopastoral system are determined by DR. Since fermentation *C. nlemfuensis* is more affected by DR older, it determines the DR forage that should grazed the system (35 to 42 DR), and to stimulate ruminal utilization management alternatives suggests looking to increase the content of PC in Cn and P in Ll, which can be achieved by fertilizing with P and inoculating mycorrhizal, given the high correlation found in this research, including fermentation and digestibility variables with the content of these nutrients.

End of the English version



- Ibrahim, M.; Villanueva, C.; Casasola, F. y Rojas, J. 2006. Sistemas silvopastoriles como una herramienta para el mejoramiento de la productividad y restauración de la integridad ecológica de paisajes ganaderos. *Pastos y Forrajes*. 29: 383-419.
- Jiménez, R. J. D. y Ortiz T. M. 2013. Composición mineral de guaje (*Leucaena leucocephala*) y pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*) en un sistema silvopastoril intensivo. Tesis Profesional, Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo. 40 p.
- Maya, M. G. E.; Durán, C. C. V. y Ararat, J. E. 2005. Valor nutritivo del pasto estrella solo y en asociación con leucaena a diferentes edades de corte durante el año. *Acta Agronómica*. 54: 41-45.
- McDowell, L. R. y Arthington, J. D. 2005. Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales. 4a Ed. Universidad de Florida, Gainesville, Florida. 94 p.
- Menke, K. H. and Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analyses and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*. 28: 7-55
- Sallam, S. M. A.; Nasser, M. E. A.; El-Waziry, A. M.; Bueno, I. C. S. and Abdalla, A. L. 2007. Use of an *in vitro* rumen gas production technique to evaluate some ruminant feedstuffs. *Journal of Applied Sciences Research*. 3: 34-41.
- SAS. 2004. SAS User's Guide: Statistics. Ver. 9.2. SAS Institute. Cary, N.C. 5180 p.
- Schofield, P. and Pell, A. N. 1995. Measurement and kinetic analysis of the neutral detergent-soluble carbohydrate fraction of legumes and grasses. *Journal of Animal Science*. 73: 3455-3463.
- Shelton, H. M.; Lowry, J. V.; Gutteridge, R. C.; Bray, R. A. and Wildin, J. H. 1991. Sustaining productive pastures in the tropics. Tree and shrub legumes in improved pastures. *Tropical Grassland*. 25: 119-128.
- Solorio, S. F.; Bacab, H.; Castillo, J. B.; Ramírez, L. y Casanova, F. 2009. Potencial de los sistemas silvopastoriles en México. II Congreso sobre sistemas silvopastoriles intensivos. Yucatán, México. 10 p.
- Tamari, Y.; Ohmori, S. and Hiraki, K. 1986. Fluorometry of nanogram amounts of selenium in biological samples. *Clinical Chemistry*. 32:1464-1467.