

Evaluación de la calidad nutritiva de siete ecotipos de *Leucaena macrophylla* (Benth.) en un Suelo Ferralítico Rojo Lixiviado

Nutritional quality evaluation of seven ecotypes of *Leucaena macrophylla* (Benth.) in a Leached Red Ferralitic Soil

D.E. García^{1*}, H.B. Wencomo², M.G. Medina¹,
Y. Noda², L.J. Cova¹ e I. Spengler³

¹Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Trujillo, Venezuela

²Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba

³Facultad de Química, Universidad de la Habana, Ciudad de la Habana, Cuba

Resumen

Mediante el análisis de componentes principales (ACP), se realizó un experimento para evaluar las variaciones de la composición química e indicadores de valor nutritivo en el follaje de siete ecotipos de *Leucaena macrophylla* (Benth.) establecidas en un suelo Ferralítico Rojo Lixiviado y condiciones de clima cálido en Matanzas, Cuba. Se determinó la composición bromatológica, los niveles de metabolitos secundarios y la degradabilidad ruminal *in situ* de la MS, PC y FDN. Mediante el ACP se detectó una elevada variabilidad para las primeras tres componentes (83,24%). Los indicadores que explicaron mejor las variaciones entre los ecotipos fueron los niveles de PC, PV, FDN, FDA, FC, LDA, taninos precipitantes (TPP), mimosina y la degradabilidad ruminal. Sin embargo, los niveles de MS, celulosa, P, K, ceniza, polifenoles totales (FT), fitatos y taninos condensados (TC), presentaron variaciones menos importantes entre las accesiones. La concentración de Ca no constituyó un indicador representativo para comparar los ecotipos. En dependencia de las características nutricionales, se identificaron cuatro grupos con perfiles distintos entre sí. Aunque todos presentaron buena composición bromatológica, el valor nutritivo se vio afectado

Recibido el 17-5-07 ● Aceptado el 8-10-07

*Autor de correspondencia e-mail: dagamar8@hotmail.com

por las elevadas concentraciones de TPP y mimosina, y no por los niveles de FT, TC y fitatos. Las accesiones evaluadas se diferencian fundamentalmente por la fracción proteica y fibrosa, y solamente los TPP y la mimosina constituyen los metabolitos secundarios más importantes en los ecotipos.

Palabras clave: *Leucaena macrophylla*, leguminosa, composición química, valor nutritivo, metabolitos secundarios, taninos, mimosina

Abstract

Through the analysis of main components (MCA) an experiment was carried out in order to evaluate the chemical composition and nutritional value variations in seven ecotypes of *Leucaena macrophylla* (Benth.) foliages settled down in a Leached Red Ferralitic Soil and warm climate conditions in Matanzas, Cuba. Bromatological composition, secondary metabolites level, and *in situ* rumen degradability (DM, CP and NDF) were determined. A high variability for the first three components (83.24%) was detected by using the MCA. CP, TPh, NDF, ADF, CF, ADL, beginner tannins (BT) and mimosine level and rumen degradability explained better the variability between the ecotypes. However, DM, cellulose, P, K, ash, total polyphenols (TPh), phytates and condensed tannins (CT) concentration presented less important variations among the accesions. The Ca level didn't constitute a representative indicator to compare the ecotypes. Four groups with distinguishing profiles, in dependence of the nutritional properties, were identified. Although all presented good bromatological composition, the nutritional value was affected by the high concentrations of BT and mimosine, and not for TPh, CT and phytates level. The evaluated accesions differ fundamentally for the proteins and fibrous fraction, and the BT and mimosine only constitute the most important secondary metabolites among the ecotypes.

Key words: *Leucaena macrophylla*, leguminous, chemical composition, nutritional value, secondary metabolites, tannins, mimosine

Introducción

Aunque en el trópico Americano, la *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit constituye la leguminosa más estudiada y con los mejores resultados productivos por su elevado valor nutritivo para rumiantes (Clavero 1998), en numerosas investigaciones llevadas a cabo en Australia, Asia y Norte América se han reportado algunas limitantes de la especie asociadas a la susceptibilidad al

Introduction

Even though in the American Tropic, *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit represents the more studied leguminous and with the best productive results by its high nutritive value for ruminants (Clavero 1998); in numerous researches carried out in Australia, Asia and North America some specie restrictions related to the

psílido (*Heterosylla cubana*), la intolerancia a las heladas, los suelos ácidos y las inundaciones, fundamentalmente (Stewart *et al.*, 1992). Por tales motivos, algunos Centros de Investigación de reconocida tradición agroforestal, tales como el Instituto Forestal de Oxford (Reino Unido), la Universidad de Hawaii (USA) y la Organización de Naciones para la Investigación Científica e Industrial (Australia), han desarrollado estudios a largo plazo para caracterizar y seleccionar otros ecotipos, híbridos interespecíficos y taxas que presenten mejor comportamiento productivo en áreas donde *L. leucocephala* no ha presentado buenos resultados (Hughes y Harris 1995). Además, otras integrantes del género tales como *Leucaena macrophylla* (Benth.), *Leucaena collinsii* (Britton & Rose), *Leucaena diversifolia* (Schlecht) Benth., *Leucaena trichodes* (Jacq.) Benth. y *Leucaena multicapitulata* (Schery) constituyen los materiales genéticos con mayores potencialidades para la realización de cruzamientos viables con *L. leucocephala* o para ser utilizadas como forrajeras en sistemas silvopastoriles, por presentar mayor rango de adaptabilidad, producción de biomasa y resistencia al ataque de plagas y enfermedades (Stewart y Dunsdon 1998).

En los últimos cincuenta años se han llevado a cabo numerosas investigaciones para caracterizar la composición química y el valor nutritivo de las especies de *Leucaena* (Dalzell 2000). No obstante, la mayor cantidad de información se encuentra relacionada con *L. leucocephala*, y se conoce muy poco sobre las características nutritivas del resto.

Asimismo, las investigaciones en

susceptibilidad al psyllid (*Heteropsylla cubana*) have been reported, especially the intolerance to freezing, the acid soils and flooding (Stewart *et al.*, 1992). For this reason, agro forest research centers such as the Oxford Forest Institute (United Kingdom), the Hawaii University (USA) and the Organization of Nations for the Scientific and Industry Research (Australia), have developed long term studies for characterizing and selecting other ecotypes, inter specific hybrid and taxa showing a better productive behavior in areas in where *L. leucocephala* do not show good results (Hughes y Harris 1995). Also, other integrant of genus such as *Leucaena macrophylla* (Benth.), *Leucaena collinsii* (Britton & Rose), *Leucaena diversifolia* (Schlecht) Benth., *Leucaena trichodes* (Jacq.) Benth. and *Leucaena multicapitulata* (Schery) constitutes the genetic materials with high potentialities for the realization of viable crossing with con *L. leucocephala* or for been used like forages in silvo pastoral systems by presenting a high rank of adaptability, biomass production and resistance to attack of pest and diseases (Stewart y Dunsdon 1998).

During the last fifty years numerous researches have been carried out with the purpose of characterizing the chemical composition and the nutritive value of *Leucaena* species (Dalzell 2000). Nevertheless, the high quantity of information is related to *L. leucocephala*, and there is very little information about the nutritive characteristics of the other genetic materials.

ocasiones han sido puntuales, y no se han podido establecer criterios nutricionales para caracterizarlas, considerando que en estudios integrales se ha determinado que se necesitan tres años de evaluaciones químico-nutricional para conocer, con exactitud, el espectro de variaciones de la composición química en el follaje de estas arbóreas (Dalzell 2000; Jones y Palmer 2002; Stewart y Dunsdon 1998).

Por otra parte, existen numerosos métodos estadísticos para evaluar las características morfoestructurales, de adaptabilidad y la composición nutricional de colecciones con potencial agropecuario, dentro de los cuales, los análisis multivariados constituyen las herramientas más importantes (Hidalgo 2003). Estos procedimientos, permiten establecer relaciones directas entre las variables medidas y discriminar, dentro de una gran cantidad de indicadores, cuales presentan mayor importancia para comparar los individuos; aspecto que no resulta evidente cuando se utilizan métodos convencionales como el análisis de varianza (Machado 2006).

Tomando en cuenta lo expuesto, el objetivo de esta investigación fue caracterizar el follaje de siete ecotipos de *L. macrophylla*, basado en las variaciones de la composición química y algunos indicadores de valor nutritivo, utilizando el análisis de componentes principales (ACP).

Materiales y métodos

Ubicación del área de muestreo

La investigación se realizó en la Estación Experimental de Pastos y

Likewise, researches have been very specific and they have not establish nutritional criteria for characterizing them, by considering that in integral studies it has been determined that three years of chemical-nutritional researches are needed for certainly knowing the spectra of variations of the chemical composition in foliage of these fodders (Dalzell 2000; Jones y Palmer 2002; Stewart y Dunsdon 1998).

On the other hand, there are numerous statistical methods for evaluating the morphostructural characteristics of adaptability and nutritional composition of collections with agricultural and cattle husbandry potential, from which the multi varied analysis, constitutes the most important tools (Hidalgo 2003). These procedures permit to establish direct relationships between the measured variables and make discrimination inside of a great quantity of indicators, which present high importance when comparing individuals; this aspect is not evident when conventional methods like the analysis of variance are used (Machado 2006).

Taking this into account, the objective of this research was to characterize the foliage of seven ecotypes of *L. macrophylla*, based on the variations of chemical composition and several indicators of nutritive value, by using the main components analysis (MCA).

Materials and methods

Sampling area location

Research was carried out at the Experimental Station of Grass and

Forrajes "Indio Hatuey" (EPPFIH), municipio Perico, provincia Matanzas, Cuba. El área donde se encuentra la plantación se localiza geográficamente a los 20° 50' de latitud Norte y 79° 32' de longitud Oeste, a una altitud de 19,9 msnm.

Condiciones edafoclimáticas

El experimento se llevó a cabo sobre un suelo de topografía plana (1-3% de pendiente) y clasificado como Ferralítico Rojo Lixiviado (tipo Húmico Nodular Ferruginoso Hidratado) de rápida desecación, arcilloso y profundo. La fertilidad natural se considera buena, es de ligeramente ácido (pH: 6,4) a neutro (pH: 7,3), con contenido bajo a medio de materia orgánica y de mediana a alta concentración de nitrógeno total (Hernández 1999).

El régimen de lluvias se caracteriza por presentar dos períodos anuales bien definidos; uno lluvioso (mayo-octubre) y otro seco de noviembre-abril. La temperatura oscila entre 16,2 y 28,5°C, con una humedad relativa elevada (60-70% durante el día y 80-90% en la noche).

En la figura 1 se muestran algunos de los indicadores climatológicos más importantes durante el período experimental.

Siembra y establecimiento de los ecotipos

Los ecotipos de *L. macrophylla* fueron sembrados en julio de 1996, ocupando un área de 0,75 ha; las plantas se sembraron a una distancia de 6 x 3 m entre surcos y entre individuos respectivamente, en cinco parcelas simples distribuidas al azar con cuatro plantas de cada ecotipo por parcela. En el área no se realizaron

Foliages "Indio Hatuey" (EPPFIH), Perico municipality, Matanzas, Cuba. Area in where plantation is geographically located at 20° 50' of North latitude and 79° 32' West length, at an altitude of 19.9 msnm.

Edapho climatic conditions

Essay was carried out in a plane topography soil (1-3% of pending) and classified like Leached Red Ferralitic (type Hydrated Ferruginous Humic Nodular) with rapid desiccation, clay and depth. The natural fertility is considered good, is lightly acid (pH: 6.4) to neutral (pH: 7.3), with low to medium content of organic matter and from medium to high concentration of total nitrogen (Hernández 1999).

Rainfall regime is characterized by presenting two annual periods well defined; one rainy (May-October) and other dry from November-April. Temperature oscillates between 16.2 and 28.5°C, with a elevated relative moisture (60-70% during day and 80-90% night).

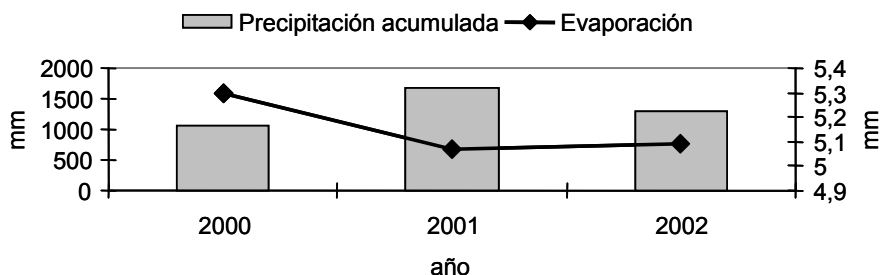
Some of climatologic indicators more important during the experimental period are shown in figure 1.

Sowing and establishment of ecotypes

Ecotypes of *L. macrophylla* were planted in July 1996, by occupying an area of 0.75 ha; plants were sowed at a distance of 6 x 3 m between rows and between individuals respectively. In five simple plots distributed at random with four plants of each ecotype by plot. Nor irrigations, fertilizers or herbicides were applied during the experimental period.

Ecotypes evaluated

Seven ecotypes of *L. macrophylla* belonging to the



*Datos obtenidos de la Estación Meteorológica Indio Hatuey, Matanzas, Cuba

Figura 1. Variables climatológicas prevalientes durante el período experimental*.

Figure 1. Climatological variables prevail during the experimental period*.

aplicaciones de riego, fertilizantes ni de herbicidas durante el periodo experimental.

Ecotipos evaluados

Se evaluaron siete ecotipos de *L. macrophylla* pertenecientes a la colección introducida al banco de germoplasma de la EEPFIH. Estos fueron: CIAT-17231, CIAT-17233, CIAT-17237, CIAT-17240, CIAT-17241, CIAT-17243 y CIAT-17245.

Periodo de evaluación

Se evaluó la calidad de la biomasa comestible por un periodo de tres años consecutivos (2000-2003), en las dos épocas representativas de Cuba. Los muestreos por época se realizaron siempre en los mismos meses (enero para la época de seca y julio para la lluviosa).

Recolección y preparación del material vegetal

Las muestras de biomasa comestible de 90 días de edad (850 g de hojas y tallos tiernos con diámetros inferiores a 6 mm) fueron recolectadas seis veces durante el periodo evalua-

collection introduced to the germ plasma bank of the EEPFIH. These were: CIAT-17231, CIAT-17233, CIAT-17237, CIAT-17240, CIAT-17241, CIAT-17243 and CIAT-17245.

Evaluation period

Quality of the available biomass was evaluated by a period of three continuous years (2000-2003), in the two period representatives of Cuba. Samplings by period were made always in the same months (January for dry period and July for rainy period).

Recollection and preparing of vegetable material

Available biomass samples of 90 days years old (850 g of leaves and fresh stems with diameter inferior to 6 mm) were collected six times during period evaluated in total of plots (one of ecotype by plot), from plants subject to periodical cuttings each three months to 1 m over soil level.

Vegetable material it was processed in an independent way, each foliage sample constituted a

do en el total de las parcelas (una de cada ecotipo por parcela), a partir de plantas sometidas a cortes periódicos cada tres meses a 1 m sobre el nivel del suelo.

El material vegetal de cada planta se procesó de forma independiente, cada muestra de follaje constituyó una réplica. La biomasa se llevó de forma inmediata al laboratorio y fueron secadas por cinco días a temperatura ambiente en ausencia de luz, para evitar la oxidación de los metabolitos secundarios fenólicos. Posteriormente se molieron hasta un tamaño de partícula de 1 mm y se colocaron en frascos de vidrio de color ámbar, herméticos hasta el momento del análisis (tiempo máximo de almacenamiento 30 días).

Mediciones analíticas

La determinación de todas las variables se realizó por triplicado, los contenidos de materia seca (MS), proteína cruda (PC), proteína verdadera (PV), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), fibra cruda (FC), lignina detergente ácido (LDA), celulosa, calcio (Ca), fósforo (P), potasio (K) y ceniza se realizó mediante las metodologías clásicas de análisis (AOAC 1990).

La cuantificación de los polifenoles totales (FT) se llevó a cabo mediante el método de Folin-Ciocalteu y formación de compuestos con tonalidades azules en medio alcalino (Makkar 2003), los taninos precipitantes (TPP) se determinaron con el uso de la fracción V de la albúmina de suero bovino (Makkar *et al.*, 1988) y los taninos condensados (TC) basado en el ensayo de nbutanol en medio clorhídrico (Porter *et al.*, 1986),

replicate and the same plants were always sampled. Biomass was carried out to the laboratory and they were dried during five days at environmental temperature in absence of light for avoiding oxidation of phenol secondary metabolites. After, they were grinded until a particle size of 1 mm and placed in glass flasks of amber color, hermetic until the analysis moment (maximum time of storage of 30 days).

Analytical measurements

Determination of every variables made by triplicate, contents of dry matter (DM), crude protein (CP), true protein (TP), neutral detergent fiber (FDN), acid detergent fiber (ADF), crude fiber (CF), acid detergent lignin (ADL), cellulose, calcium (Ca), phosphorous (P), potassium (K) and ash was accomplished through classic methodologies of analysis (AOAC 1990).

Quantification of total poly phenols (TPh) was carried out through Folin-Ciocalteu method and the compounds formation with blue tonalities in an alkaline medium (Makkar 2003), precipitate tannins (BT) were determined with the use of fraction V of the bovine serum albumin (Makkar *et al.*, 1988) and the condensed tannins (TC) based on the nbutanol in chloride medium (Porter *et al.*, 1986), through modifications proposed for quantification of pro anthocyanidine in foliage of species of *Leucaena* without ferric salt use (Dalzell and Kerven 1998; Dlazell *et al.*, 1998). Phytic phosphorous level (P. phytic) was determined by modifications made to the original

mediante modificaciones propuestas para la cuantificación de proantocianidinas en el follaje de especies de *Leucaena* sin la utilización de la sal férrica (Dalzell y Kerven 1998; Dalzell *et al.*, 1998). Los niveles de fósforo fítico (P. fítico) se determinaron mediante modificaciones realizadas al método original propuesto por Early y Turk 1944). Los contenidos de mimosina se cuantificaron en el material fresco mediante colorimetría (Matsumoto y Sherman 1951).

En la estimación de la degradabilidad *in situ* a las 48 horas de la MS (DMS), PC (DPC) y de la FDN (DFDN) se evaluaron cinco muestras por ecotipo. El experimento se llevó a cabo en periodos continuos de quince días (siete de adaptación al consumo de cada accesión y ocho de mediciones). Las pruebas se realizaron en el siguiente orden: CIAT-17245, CIAT-17237, CIAT-17240, CIAT-17241, CIAT CIAT-17233, -17243 and CIAT-17231.

La degradabilidad se estimó mediante el procedimiento de las bolsas de nailon en rumen (Mehrez y Ørskov 1977), empleando dos bolsas (tamaño de poro: 50 micra) por cada muestra y tres repeticiones, para un total de treinta incubaciones por ecotipo.

Aproximadamente 2,2 g de biomasa comestible fueron incubados en el rumen de tres ovinos Criollos (37,7±3,67 kg de peso vivo) con cánula permanente en el rumen los cuales, antes de la incubación de cada tratamiento, fueron adaptados a consumir los forrajes por una semana, como suplemento de una dieta basal

method proposed by Early and Turk (1944). Mimosine contents were quantified in fresh material by colorimetry (Matsumoto y Sherman 1951).

In the estimation of *in situ* degradability at 48 hours of DM (DMD), CP (CPD) and NDF (NDFD) five samples by each ecotype were evaluated. Experiment was carried out in continuous periods of fifteen days (seven for adaptation to consumption of each accession and eight for measurements). Tests were made in the following order: CIAT-17245, CIAT-17237, CIAT-17240, CIAT-17241, CIAT CIAT-17233, -17243 and CIAT-17231.

Degradability was estimated through procedure of nylon bags in rumen (Mehrez y Ørskov 1977), by using two bags (pore size: 50 micron) by each sample and three replicates, for a total of thirty incubations by ecotype.

Approximately 2.2 g of available biomass were incubated in rumen of three Creole lambs (37.7±3.67 kg of live weight) with permanent cannula in rumen which before incubation of each treatment were adapted to consumption of foliages for a week, like supplement of a basal diet formed by hay *ad libitum* (*Cynodon nlemfluensis*), commercial concentrate (170 g/animal/day) and water to will. Average consumption of each accession during period of adaptation to diet was of: 85, 82, 75, 96, 74, 68, 91 gDM/animal/day in relation to order of ecotypes essayed in the test of nutritive value.

Experimental design, treatments and statistical methods

formada por heno *ad libitum* (*Cynodon nlemfluensis*), concentrado comercial (170 g/animal/día) y agua a voluntad. El consumo promedio de cada acesión durante el periodo de adaptación a la dieta fue de: 85, 82, 75, 96, 74, 68, 91 gMS/animal/día con relación al orden de los ecotipos ensayados en la prueba de valor nutritivo.

Diseño experimental, tratamientos y métodos estadísticos

Se empleó un diseño totalmente aleatorizado con cinco réplicas, donde los ecotipos evaluados constituyeron los tratamientos. Para el procesamiento de la información se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 10.0 para Windows® (Visauta 1998). Para llevar a cabo el ACP se utilizó la opción "Data Reduction" empleando la matriz de covarianza para la obtención de las relaciones entre las variables. La agrupación de los ecotipos, en dependencia de sus características, se realizó usando el diagrama tridimensional a partir de las coordenadas obtenidas en el ACP para cada caso (Philippeau 1986).

Resultados y discusión

El cuadro 1 muestra los resultados obtenidos en el ACP para la composición química y el valor nutritivo. En este sentido, la varianza total extraída mediante el análisis fue elevada (83,24%), lo que pone de manifiesto que las accesiones presentan diferencias sustanciales en la mayoría de los indicadores medidos. La variabilidad obtenida entre los ecotipos de *L. macrophylla*, como resultado del ACP, es similar a la informada en la evaluación nutricional de

A complete random design with five replications was used, where the ecotypes evaluated constitutes treatments. For processing information the statistical program SPSS version 10.0 for Windows® (Visauta 1998) was used. For accomplished MCA the option "Data Reduction" was used with the matrix of covariance for the obtaining of relationships between variables. The grouping of ecotypes, in dependence of its characteristics was made by using the tri dimensional from coordinates obtained in MCA for each case (Philippeau 1986).

Results and discussion

Table 1 shows the results obtained in MCA for chemical composition and the nutritive value. The total variance extracted through the analysis was elevated (83.24%), that evidence that accesions shows substantial differences in the majority of measured indicators. Variability obtained between ecotypes of *L. macrophylla*, as a result of the MCA, is similar to the informed in the nutritional evaluation of ten accesions of *L. leucocephala* (85.83%) in where cv. Cunningham and CNIA-250 detaches, and America, L-7 and K-28 varieties (García *et al.*, 2008). However, percentage of total variability extracted is very superior to those obtained in a characterization made to nineteen accesions of *L. leucocephala* CIAT in which little fluctuation in its nutritional profile was observed (García *et al.*, 2008).

The high phenotypic of commercial cultivars of *L.*

Cuadro 1. Resultados del ACP y relación entre las variables nutricionales de siete ecotipos de *L. macrophylla*.**Table 1. Results of the MCA and its relationship between nutritional variables of seven ecotypes of *L. macrophylla*.**

Variable	Componente principal		
	1	2	3
MS	0,23	0,96	-0,13
PC	0,97	0,14	-0,19
PV	0,96	-0,15	-0,21
FDN	0,97	-0,02	0,20
FDA	0,98	0,04	0,18
FC	0,96	0,04	0,18
LDA	0,83	-0,31	-0,37
Celulosa	0,21	-0,95	0,05
Ca	-0,07	0,13	0,29
P	0,08	0,86	0,26
K	-0,36	0,37	0,54
Ceniza	0,54	0,68	-0,08
FT	-0,18	-0,92	0,02
TPP	-0,92	0,19	0,13
TC	-0,10	0,70	-0,44
P. fítico	-0,04	0,78	0,44
Mimosina	-0,81	-0,31	0,22
DMS	0,94	0,12	0,30
DPC	0,90	-0,16	-0,29
DFDN	0,63	0,35	-0,66
Valor propio (λ)	9,65	5,53	1,86
Varianza (%)	48,25	27,66	9,28
Varianza total (%)	48,25	75,91	85,19

MS: materia seca, PC: proteína cruda, PV: proteína verdadera, FDN: fibra detergente neutro, FDA: fibra detergente ácido, FC: fibra cruda, LDA: lignina detergente ácido, FT: polifenoles totales, TPP: taninos precipitantes, TC: taninos condensados, P. fítico: fósforo fítico, DMS: degradabilidad de la materia seca a las 48 h, DPC: degradabilidad de la proteína cruda a las 48 h, DFDN: degradabilidad de la fibra detergente a las 48 h.

diez accesiones de *L. leucocephala* (85,83%) donde sobresalieron los cv. Cunningham y CNIA-250, y las variedades América, L-7 y K-28. Sin embargo, el porcentaje de variabilidad

leucocephala and the ecotypes of *L. macrophylla*, compared with the accesions of *L. leucocephala* CIAT, is justified by the elevated variation extracted in the components formed.

total extraída es muy superior al obtenido en una caracterización realizada a diecinueve accesiones de *L. leucocephala* CIAT en las cuales se observó poca fluctuación en su perfil nutricional (García *et al.*, 2008).

La mayor diferenciación fenotípicas de los cultivares comerciales de *L. leucocephala* y los ecotipos de *L. macrophylla*, comparados con las accesiones de *L. leucocephala* CIAT, se justifica por la elevada variación extraída en los componentes formados. Al respecto, en evaluaciones de recursos fitogenéticos se reporta la factibilidad del uso del porcentaje de varianza en la formación de cada componente principal, como indicador fehaciente, para definir cuales de las variables cuantificadas, presentan la mayor importancia para caracterizar accesiones genéticamente relacionadas entre sí (Hidalgo 2003; Machado 2006).

En esta investigación donde se estudiaron solamente ecotipos de *L. macrophylla*, quizás la elevada varianza acumulada extraída en las tres primeras componentes, sugiere características genotípicas ligeramente diferenciadas, dentro del patrón de los ecotipos y/o un efecto marcado del ambiente en la diferenciación entre las accesiones.

La primera componente (CP 1) extrajo el 46,19% de la variabilidad (más de la mitad de la variación total extraída) y los indicadores que explicaron mejor la varianza fueron la fracción nitrogenada (PC, PV), la fibrosa (FDN, FDA, FC, LDA), los contenidos de TPP y mimosina y la degradación *in situ* de la MS, PC y FDN; lo que resalta la mayor importancia de los

Respect to this, in evaluations of phyto genetics resources is reported the feasibility of use of percentage of variance in the formation of each main component, like a reliable indicator, for defining which of quantified variables, present the high importance for characterizing accesions genetically related among them (Hidalgo 2003; Machado 2006).

In this research only were studied ecotypes of *L. macrophylla*, perhaps the elevated accumulated variance extracted in three first components, suggest genotypic characteristics lightly differenced, inside of ecotypes pattern and/or a marked effect of environment in the differentiation between accesions.

The first component (PC1) extract 46.19% of variability (more of the half of total variation extracted) and indicators that better explained the variance were the nitrogen fraction (CP, TP), the fibrous (NDF, ADF, CF, ADL), contents of BT and mimosine and degradation *in situ* of DM, CP and NDF; detaches the high importance of protein and fibrous (bromatological indicators more relevant), tannic compounds with biological activity, amino acids no protein (secondary metabolites in *Leucaena* genus) and degradation of nutritive fractions, like the more representative variables in ecotypes evaluated of *L. macrophylla*.

Respect to the inter relation between variables, protein and fiber contents, and rumen degradability were related in a negative way with levels of BT and mimosine which makes evident that ecotypes with high protein and fibrous fraction, and

niveles proteicos y fibrosos (indicadores bromatológicos más relevantes), los compuestos tánicos con actividad biológica, los aminoácidos no proteicos (metabolitos secundarios mayoritarios en el género *Leucaena*) y la degradación de las fracciones nutritivas, como las variables más representativas en los ecotipos evaluados de *L. macrophylla*.

Con respecto a la interrelación entre las variables, los contenidos de proteínas, fibra y la degradabilidad ruminal se relacionaron negativamente con los niveles de TPP y mimosina. Lo cual pone de manifiesto que, los ecotipos con mayor fracción proteica y fibrosa, y contenidos bajos de TPP y mimosina, se caracterizaron por exhibir una mayor degradabilidad ruminal que el resto.

La relación fuertemente inversa entre los niveles de TPP y los indicadores de valor nutritivo, y particularmente con la DMS y la DPC, podría indicar el efecto antinutricional ampliamente conocido de los taninos en la degradación ruminal, informado en numerosas investigaciones llevadas a cabo con *Leucaena* (Stewart y Dunsdon 1998), y también con otras arbóreas forrajeras de amplia distribución en el trópico de los géneros *Cassia*, *Pithecellobium* y *Albizia* (García *et al.*, 2006a; García *et al.*, 2006b).

Aunque también es conocida la influencia perjudicial de la mimosina en la salud animal cuando esta se encuentra en concentraciones elevadas (superior al 6%BS), los principales estudios sobre su efecto en la degradabilidad ruminal se han realizado tomando a *L. leucocephala* como

little contents of P and mimosine, were characterized by exhibiting a higher rumen degradability than other.

A strong negative relationship between BT levels and indicators of nutritive value, and particularly with DMD and CPD, could indicate the effect anti nutritional widely known of tannins in rumen degradation, reporting in numerous researches carried out with *Leucaena* (Stewart y Dunsdon 1998), and also with other fodder foliages of wide distribution in tropic of genus *Cassia*, *Pithecellobium* and *Albizia* (García *et al.*, 2006a; García *et al.*, 2006b).

Even though is known the damaging influence of mimosine in animal health when this is found in elevated concentrations (superior to 6% BS), the main studies about its effect in rumen degradability have been accomplished by taking to *L. leucocephala* like experimental material and there is little information about the damaging action of this metabolite in the digestive physiology of ruminants feeding with other species of *Leucaena* (Dalzell 2000). If presence of secondary compound could be beneficial by permitting a higher digestibility of nitrogen in low parts of gastrointestinal tract (Razz *et al.* 2004), negative relationship with indicators of nutritive value describes an accentuated anti nutritive effect in rumen; by considering the relatively high contents of mimosine that showed the ecotypes (5.34-3.72%BS).

Second component (CP2) extracted 28.64% of the total variance and variables with higher relationship in this axle were contents

material experimental, y existe poca información sobre la acción detrimental de este metabolito en la fisiología digestiva de los rumiantes alimentados con otras especies de *Leucaena* (Dalzell 2000). Si bien la presencia del compuesto secundario puede ser benéfica por permitir una mayor digestibilidad del nitrógeno en las partes bajas del tracto gastrointestinal (Razz *et al.*, 2004), la relación inversa con los indicadores de valor nutritivo describe un acentuado efecto antinutricional en el rumen; considerando los contenidos relativamente elevados de mimosina que exhibieron los ecotipos (5,34-3,72%BS).

La segunda componente (CP 2) extrajo el 28,64% de la varianza total y las variables con mayor relación en este eje fueron los contenidos de MS, celulosa, P, ceniza, FT, TC y P. fítico. Dichos resultados describen, considerando el signo de los coeficientes de cada variable, que los ecotipos con mayores porcentajes de MS y minerales presentan mayor cantidad de TC y fitatos, aún cuando los contenidos de FT fueron inferiores.

Aunque, en sentido general, las especies forrajeras con elevada distribución tropical presentan mayor o similar cantidad de FT que de taninos, por el hecho de que los taninos se encuentran dentro del grupo de los fenólicos, la relación obtenida entre los contenidos de FT y TC en las accesiones de *L. macrophylla*, en principio contradictoria, se puede explicar por el hecho de que mediante el método utilizado para cuantificar los FT (Folin-Ciocalteu) se detectan todo los tipos de compuestos que tienen los grupos hidroxilos (-OH) en forma libre, capa-

de DM, celulosa, P, ash, TPh, TC and P. phytic. These results describes, by considering the sign of coefficients of each variable, that ecotypes with higher percentages of DM and minerals shows higher quantity of CT and phytates, even when TPh contents tend to lower.

Even though, in general, the forage species with an elevated tropical distribution shows higher or similar quantity of TPh than tannins because they are inside of group of phenolid, relationship obtained between contents of TPh and CT in the accessions of *L. macrophylla*, on the contrary, it can be explained through the method used for quantify TPh (Folin-Ciocalteu) in where every type of compounds of hydroxyl groups are detected (-OH) in a free way, with the capacity of getting oxidation quantitatively; whereas the essay for determining concentration of CT (nbutanol/HCl) consider every tannins with groups -OH free or linked to carbohydrates or another aglycons, because the color development occurs after the acid hydrolysis fraction to CT until its monomeric form (García *et al.*, 2006b).

This singular aspect is closely related to natural processes of detoxification and biological inactivation of tannins in foliages of leguminous, which depends on specie, phenology, age of biomass and degree of affecting by foliage pathogens (Makkar 2003). In this sense, results agree with those describes in numerous species of the *Albizia* (García *et al.*, 2006a) and *Quercus coccifera* L. (Ben Salem *et al.*, 2005) genre, in which both groups of

ces de oxidarse cuantitativamente; mientras que el ensayo para determinar la concentración de TC (nbutanol/HCl) considera todos los taninos con grupos -OH libres o unidos a carbohidratos u otros aglicones, debido a que el desarrollo de color ocurre después de la hidrólisis ácida que fracciona a los TC hasta su forma monomérica (García *et al.*, 2006b).

Este singular aspecto se encuentra estrechamente relacionado con los procesos naturales de detoxificación e inactivación biológica de los taninos en los follajes de las leguminosas, el cual depende de la especie, la fenología, la edad de la biomasa y el grado de afectación por patógenos foliares (Makkar 2003). En este sentido, los resultados coinciden con los descritos en numerosas especies del género *Albizia* (García *et al.*, 2006a) y en *Quercus coccifera* L. (Ben Salem *et al.*, 2005), en las cuales se cuantificaron ambos grupos de metabolitos por los mismos métodos analíticos utilizados en esta investigación.

La fuerte relación positiva entre los contenidos de TC y los fitatos (expresados como P. fítico), quizás describa una estrategia de defensa, cuando estos compuestos son utilizados por las plantas como mecanismos de protección ante los animales herbívoros (García y Medina 2005; Makkar 2003).

Al respecto, los TC son efectivos compuestos de protección por sus propiedades astringentes tanto para monogástricos como rumiantes (Makkar *et al.*, 1988; Makkar 2003), sin embargo los fitatos, se consideran metabolitos deletéreos fundamentalmente para animales monogástricos

metabolites were quantified by the same methods used in this research.

The positive relationship between contents of CT and the phytates (expressed like P. phytic), perhaps describes a defense strategy when these compounds are used by plants like protection mechanisms against herbivorous animals (García y Medina 2005; Makkar 2003).

CT are effective compounds of protection because of its astringent properties for monogastric animals and ruminants (Makkar *et al.* 1988; Makkar 2003), however, phytates are considered like deleterious metabolite especially for simple stomach animals because these do not have enzymes (endogenous phytases) capable of degrade them (Godoy *et al.*, 2005).

In spite of phytates are specially placed on seeds; it is known that through mobilization process can be present in foliage, even in lower concentrations. Nevertheless, the close relationship found between CT and P. phytic even though levels of the last one in the ecotypes did not surpassed 0.04%BS, could be indicative of any function or defensive synergistic effect of these compounds in plant.

Tannins and specifically the CT are placed in the superior stratum of plants like first chemical defense against predators. However, phytates like compounds related to metabolism and availability of minerals in seed, present a limited distribution in vegetable kingdom and constitutes a more specific anti nutritional factor (Godoy *et al.*, 2005).

On the other hand, it is known that even leguminous have a wide

porque éstos no cuentan con enzimas (fitasas endógenas) capaces de degradarlos (Godoy *et al.*, 2005).

Aunque los fitatos se encuentran mayoritariamente en las semillas, es conocido que mediante procesos de movilización pueden estar presentes en el follaje, aunque en concentraciones más bajas. No obstante, la fuerte relación encontrada entre los TC y el P. fítico, aún cuando los niveles de este último en los ecotipos no sobrepasó el 0,04%BS, pudiera ser indicativo de alguna función o sinergismo defensivo de estos compuestos en la planta.

Los taninos, y específicamente los TC, se encuentran fundamentalmente en los estratos superiores de las plantas como primera defensa química ante los depredadores. Sin embargo, los fitatos, como compuestos relacionados con el metabolismo y la disponibilidad de minerales en la semilla, presentan distribución limitada en el reino vegetal y constituye un factor antinutricional más específico (Godoy *et al.*, 2005).

Por otra parte, es conocido que aunque las leguminosas contienen una amplia diversidad de compuestos biológicamente activos, en la mayoría de las especies estudiadas fitoquímicamente se ha observado que la presencia combinada de metabolitos secundarios con propiedades deletéreas para rumiantes y monogástricos es más efectiva, desde el punto de vista defensivo, que el efecto adverso que pudiera causar un compuesto aislado (García y Medina 2005).

Quizás la presencia conjunta de fenoles y fitatos, en las accesiones pudiera constituir una estrategia de

diversity of biologically active compounds, in the most of species phyto chemical studied it has been observed that the combined presence of secondary metabolites with deleterious properties for ruminants and simple stomach animals is more effective, from the defensive point of view that the adverse effect could cause an isolated compound (García y Medina 2005; García *et al.*, 2007).

Perhaps the presence of phenols and phytates, in the accesions could constitute a protection strategy in the productive scale, by considering that majority of *Leucaena*, *L. macrophy* species, present a more accentuated poly phenol profile (García y Medina 2005; García *et al.*, 2006a).

Additionally, the close and positive relationship between the two types of secondary compounds related in CP 2, could permit an aspect of interest for genetist in the obtaining and selection of hybrids with little concentrations of tannins and phytates; an aspect detached in researches in where the feasibility for employing correlations between secondary metabolites like selection and improvement in fodder species criterion have been studied (Makkar 2003).

On the other hand, levels of total P, P. phytic and ash were related among them in a positive way; that shows in the evaluated accesions the P constitutes the mineral with high comparative importance, even though the mean levels in ecotypes (0.13-0.18%), are very inferior to those of Ca (1.61-1.79%) and K (1.89-2.70%).

The hard positive relationship between levels of total P and P. phytic

protección en la escala evolutiva, considerando que, dentro de la mayoría de las especies de *Leucaena*, *L. macrophylla* presenta un perfil polifenólico más acentuado (García y Medina 2005; García *et al.*, 2006a).

Adicionalmente, la fuerte relación positiva entre los dos tipos de compuestos secundarios, relacionados en la CP 2, pudiera constituir un aspecto de interés para los genetistas en la obtención y selección de híbridos con concentraciones menores de taninos y fitatos; aspecto resaltado en investigaciones donde se ha estudiado la factibilidad de emplear las correlaciones entre los metabolitos secundarios como criterio de selección y mejoramiento en especies forrajeras (Makkar 2003).

Por otra parte, los niveles de P total, P. fítico y ceniza se relacionaron de forma positiva entre sí; lo que demuestra, que en las accesiones evaluadas el P constituye el mineral de mayor importancia comparativa, aun cuando los niveles promedios en los ecotipos (0,13-0,18%), son muy inferiores a los de Ca (1,61-1,79%) y K (1,89-2,70%).

La fuerte relación positiva entre los niveles de P total y P. fítico refleja la correspondencia entre las fracciones de fósforo, reportada en los granos de numerosos ingredientes para la alimentación animal en Venezuela (Godoy *et al.*, 2005) y en otras accesiones de *L. leucocephala* (García *et al.*, 2007), aun cuando se informa que estos compuestos son abundantes en los cereales y oleaginosas, y no se encontró información publicada como antecedente, en la cual se describa sus concentraciones en los follajes arbóreos.

La tercera componente (CP 3)

reflects the correspondence between phosphorus fractions reported in grains of numerous ingredients for animal nutrition in Venezuela (Godoy *et al.*, 2005) and in other accesions of *L. leucocephala* (García *et al.*, 2007), even when these compounds are abundant in cereal and oleaginous, there are no found any information about their concentrations in fodder foliages published like antecedent.

The third compound (CP 3) explained the 8.41% of variability and the content of K and the DFDN likewise the P phytic levels contributed to its formation. These results shows that accesions not differs in the contents of this mineral and like bromatological variable, K concentrations results irrelevant from the corporative point of view between ecotypes.

Ca contents were not related in any of components that grouped the higher variability which evidences that it is the macro element with minor numerical variations and that not result important for characterizing accesions of *macrophylla*.

Taking into account the particularities from ACP, in figure 2 are shown the ecotypes grouping, in dependences of its nutritional characteristics.

Ecotypes were divided into four groups with differenced characteristics among them. Group I (G-I) was only integrated by ecotype CIAT-17245. This distinguished from rest by showing little concentrations of proteins, compounds of fibrous fraction, high quantity of BT and mimosine and little rumen

explicó el 8,41% de la variabilidad y en su formación solamente contribuyó el contenido de K y la DFDN, y en alguna medida los niveles de P. fítico. Estos resultados demuestran que las accesiones no se diferencian sustancialmente en los contenidos de este mineral y que, como variable bromatológica, las concentraciones de K resultan irrelevantes desde el punto de vista comparativo entre ecotipos.

Asimismo, los contenidos de Ca no se encontraron relacionados en ninguno de los componentes que agruparon la mayor variabilidad; lo que pone de manifiesto que es el macroelemento de menores variaciones numéricas y que no resulta importante para caracterizar las accesiones de *L. macrophylla*.

Teniendo en cuenta las particularidades a partir del ACP, en la figura 2 se muestran las agrupaciones de los ecotipos, en dependencias de sus características nutricionales.

Los ecotipos se dividieron en cuatro grupos con características diferenciadas entre sí. El grupo I (G-I) estuvo integrado solamente por el ecotipo CIAT-17245. Este se distinguió del resto por presentar concentraciones inferiores de proteínas, compuestos de la fracción fibrosa, mayor cantidad de TPP y mimosina y baja degradabilidad ruminal de la MS, PC, FDN; comparativamente.

El grupo II (G-II), integrado por la accesión CIAT-17231, se caracterizó por presentar poca proporción de MS, minerales y más celulosa y FT.

El grupo III (G-III) estuvo integrado por las accesiones CIAT-17240, CIAT-17243 y CIAT-17241 y se diferenció, fundamentalmente, por su

degradability of DM, CP, NDF; comparatively.

Group II (G-II), integrated by accession CIAT-17231, was characterized by showing little proportion of DM, minerals and more cellulose and TPh.

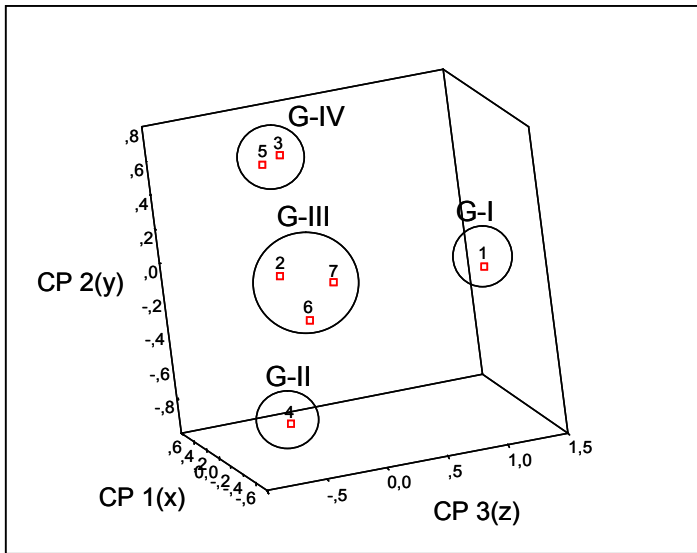
Group III (G-III) was formed by accessions CIAT-17240, CIAT-17243 and CIAT-17241 and was differentiated, basically by its high protein-fibrous fraction, little quantity of BT and mimosine and high DMD, DCP and DNDF compared with the rest.

Group IV (G-IV) was composed by ecotypes CIAT-17233 and CIAT-17237. These accessions detached by its higher content of DM, minerals and CT, but with little proportions of TPh and cellulose.

In table 2 is shown the group mean of accessions in relation to its nutritional characteristics..

Even though nutritive profile of accessions evaluated was similar in every case. in a general sense, accessions CIAT-17240, CIAT-17243 and CIAT-17241 can be considered superior for ruminant's nutrition by taking into account the more important variables.

Ecotypes CIAT-17231, CIAT-17233 and CIAT-17237 showed an intermediate behavior and the accession CIAT-17245 showed the more discrete results. However, all of them can be used as a protein supplementary source, basically, for the rumen ecosystem; the results obtained in relation to high levels of secondary metabolites (tannins and mimosine) and the relatively little degradability of DM, CP and NDF, compared with other results obtained



I (¹CIAT-17245), II (⁴CIAT-17231), III (²CIAT-17240, ⁶CIAT-17243, ⁷CIAT-17241), IV (³CIAT-17233, ⁵CIAT-17237)

Figura 2. Distribución grupal de siete ecotipos de *L. macrophylla* según sus características nutritivas.

Figure 2. Group distribution of seven ecotypes of *L. macrophylla* according its nutritional characteristics.

mayor fracción proteica-fibrosa, menor cantidad de TPP y mimosina y superior DMS, DPC y DFDN, comparada con el resto.

El grupo IV (G-IV) lo conformaron los ecotipos CIAT-17233 y CIAT-17237. Estas accesiones se destacaron por su mayor contenido de MS, minerales y TC, pero con menores proporciones de FT y celulosa.

En el cuadro 2 se muestra la media grupal de las accesiones en cuanto a sus características nutricionales.

Aunque el perfil nutritivo de las accesiones evaluadas fue similar en todos los casos, en sentido general,

in species of *Leucaena*, do not gives nutritional characteristics, excellent or superior to other accesions of *L. leucocephala* widely used in tropic (Dalzell *et al.*, 1998; Jones y Palmer 2002; Razz *et al.*, 2004).

In all case, rumen degradability was inferior to 50%, by considering the high levels of beginner tannins between accesions (4.34-4.60%BS), the BT could complex quantitatively the foliar protein, by making impossible the effective degradation of the tannin-protein complex in the gastrointestinal tract; taking into account that biological studies *in vitro*

Cuadro 2. Media grupal de las variables nutricionales en el follaje de siete ecotipos de *L. macrophylla*.**Table 2. Group mean of nutritional variables in foliage of seven ecotypes of *L. macrophylla*.**

Variable (%)	Grupo			
	I	II	III	IV
MS	23,80	22,10	24,68	27,88
PC	19,57	21,57	26,45	24,64
PV	12,43	16,20	20,83	17,64
FDN	44,06	43,32	50,27	46,62
FDA	15,19	14,45	21,40	18,19
FC	16,87	16,13	23,08	19,87
LDA	8,46	13,00	14,67	12,17
Celulosa	14,00	16,00	15,34	11,69
Ca	1,75	1,61	1,69	1,79
P	0,17	0,13	0,16	0,18
K	2,70	1,89	2,02	2,31
Ceniza	5,81	7,98	5,41	7,35
FT	5,54	5,98	5,58	5,11
TPP	4,60	4,50	4,34	4,48
TC	5,46	5,50	5,46	5,66
P. fítico	0,04	0,03	0,04	0,04
Mimosina	5,34	5,65	5,72	5,41
DMS	42,86	43,17	45,44	44,82
DPC	52,74	54,89	56,85	55,43
DFDN	33,44	35,73	36,18	36,66

I (¹CIAT-17245), II (⁴CIAT-17231), III (²CIAT-17240, ⁶CIAT-17243, ⁷CIAT-17241), IV (³CIAT-17233, ⁵CIAT-17237)

MS: materia seca, PC: proteína cruda, PV: proteína verdadera, FDN: fibra detergente neutro, FDA: fibra detergente ácido, FC: fibra cruda, LDA: lignina detergente ácido, FT: polifenoles totales, TPP: taninos precipitantes, TC: taninos condensados, P. fítico: fósforo fítico, DMS: degradabilidad de la materia seca a las 48 h, DPC: degradabilidad de la proteína cruda a las 48 h, DFDN: degradabilidad de la fibra detergente a las 48 h.

las accesiones CIAT-17240, CIAT-17243 y CIAT-17241 pueden ser consideradas superiores para la alimentación de los rumiantes tomando en cuenta las variables más importantes.

Los ecotipos CIAT-17231, CIAT-

have shown that when this compounds are found in superior concentrations to 2.1%BS exist a decrease of rumen fermenting and production of volatile fatty acids (Makkar 2003), independently to

17233 y CIAT-17237 presentaron un comportamiento intermedio y la acesión CIAT-17245 exhibió los resultados más discretos. No obstante, todas pueden ser empleadas como fuente suplementaria de proteínas, fundamentalmente, para el ecosistema ruminal; aunque se debe reconocer que los resultados obtenidos con relación a los elevados niveles de metabolitos secundarios (taninos y mimosina) y la relativamente baja degradabilidad de la MS, PC y FDN, comparado con otros resultados obtenidos en especies de *Leucaena*, no le confieren características nutritivas sobresalientes ni superiores a otras accesiones de *L. leucocephala* ampliamente utilizada en el trópico (Dalzell *et al.*, 1998; Jones y Palmer 2002; Razz *et al.*, 2004).

En todos los casos la degradabilidad ruminal fue inferior al 50%, esto quizás se debe a que, considerando los elevados niveles de taninos precipitantes entre las accesiones (4,34-4,60%BS), los TPP pudieron acomplejar cuantitativamente la proteína foliar, imposibilitando la degradación efectiva del complejo tanino-proteína en el tracto gastrointestinal; teniendo en cuenta que en estudios biológicos *in vitro* se ha demostrado que cuando estos compuestos se encuentran en concentraciones superiores a 2,1%BS existe una disminución de la fermentación ruminal y la producción de ácidos grasos volátiles (Makkar 2003), independientemente a que los contenidos de taninos totales o TC sean superiores.

Aunque la formación del complejo tanino-proteína en ocasiones es irreversible y la proteína no es aprovechada en el sistema digestivo, per-

contents of total tannins or CT be superior.

Formation of tannin-protein complex in occasions is irreversible and protein is not taken in advantage for the digestive system, by loosing in feces. Interaction between both molecules always depends on pH of environment that have them, of type of tannin and of protein witch one interacts, but specially it is closely related with the capacity of tannin for precipitates the bio molecules, in a general sense, expressed like the phenol quantity capable of precipitates a protein unit or the proportion of this precipitates by the tannin unit (García y Medina 2005; Makkar *et al.*, 1988; Makkar *et al.*, 1997).

It is suggest to continue the studies with accesions, by determining basically the intestinal digestibility of nitrogen undegraded in rumen, quantity of tannin adjusted to the endogenous proteins of foliage and chemical-physical characteristics of poly phenols present, for solving mechanism by which the rumen degradation *in situ* is affected by every ecotype of *L. macrophylla*.

Like practical implication of this research, result very uncertain to attribute variations of chemical composition inter-ecotypes, to the edapho climatic conditions prevailed in the study area; since there is very little information about the phytochemical characteristics of accesions evaluated in other conditions of climate and soil.

Also, for making an useful comparison with other accesions, ecotypes and inter specific hybrids of

diéndose en las heces. La interacción entre ambas moléculas siempre es dependiente del pH del medio que los contiene, del tipo de tanino presente y de la proteína con la cual interactúa, pero sobre todo, se encuentra estrechamente relacionada con la capacidad que tiene el tanino para precipitar las biomoléculas, en sentido general, expresada como la cantidad de fenol capaz de precipitar una unidad de proteína o la proporción de esta precipitada por unidad de tanino (García y Medina 2005; Makkar *et al.*, 1988; Makkar *et al.*, 1997).

Se sugiere profundizar los estudios con las accesiones, determinando fundamentalmente la digestibilidad intestinal del nitrógeno no degradado en rumen, la cantidad de taninos acoplados a las proteínas endógenas del follaje y las características químico-físicas de los polifenoles presentes, para poder dilucidar el mecanismo por el cual se ve afectada la degradación ruminal *in situ* de todos los ecotipos evaluados de *L. macrophylla*.

Como implicación práctica de esta investigación, resulta muy incierto atribuir las variaciones de la composición química inter-ecotipos, a las condiciones edafoclimáticas que prevalecieron en el área de estudio; ya que se conoce muy poco sobre las características fitoquímicas de las accesiones evaluadas en otras condiciones de clima y suelo.

Además, para realizar una comparación provechosa con otras accesiones, ecotipos e híbridos inter específicos de *L. macrophylla*, se debe presuponer que otros factores inherentes a la planta, y al método de análisis, no influyen notablemente; aspecto que en la mayoría de los casos constituye

L. macrophylla, it have to be supposed that other factors inherent to plant and to the method of analysis, do not influencing in a notable way; aspect that in the most of case constitutes the principal variation source.

In this sense, the effect of biomass maturity, the method of samples collection, the type of dry and the analytical pattern in the determination of chemical composition of the same specie of *Leucaena* (Dalzell *et al.*, 1998; Dalzell 2000).

It have to be detaches that in experimental conditions described, results could be comparable with those obtained in a wide number of *Leucaena* species in Centro America (Honduras), in where the evaluation of accesions of *L. macrophylla*, established to 593 msnm on a soil with pH between 6.7-7.0 and similar annual distribution of rainfall to the informed in this study (Stewart y Dunsdon 1998).

These authors used, in essence, the same analytical methods used in this evaluation, but without the use of chemical patterns and dehydrating the samples in heater like dry procedure.

In that study accesions of *L. macrophylla* showed in a comparative way, high contents of CT and BT in relation to the rest of those evaluated (41 accesions), only surpassed by phenolic fraction of *L. diversifolia*, *L. esculenta*, *L. pulverulenta*, *L. retusa*, and *L. trichandra*, which evidence that *L. macrophylla*, its hybrids and varieties, shows a higher proportion of poly phenols if they are compared with tannins levels of *L. leucocephala*, *L. collinsii*, *L. trichodes*, *L. lanceolata*, *L. multicapitulata* and *L.*

la principal fuente de variación.

En este sentido, se conoce el efecto de la madurez de la biomasa, el método de recolección de muestras, el tipo de secado y el patrón analítico en la determinación de la composición química de una misma especie de leucaena (Dalzell *et al.*, 1998; Dalzell 2000).

Se debe destacar que, en las condiciones experimentales descritas, los resultados pudieran ser comparables con los obtenidos en un amplio número de especies de *Leucaena* en Centroamérica (Honduras), donde se incluyó la evaluación de accesiones de *L. macrophylla*, establecidas a 593 msnm sobre un suelo con pH entre 6,7-7,0 y similar distribución anual de las lluvias a la informada en este estudio (Stewart y Dunsdon 1998).

Estos autores emplearon, en esencia, los mismos métodos analíticos utilizados en esta evaluación, pero sin el uso de patrones químicos y deshidratando las muestras en estufa como procedimiento de secado.

En dicho estudio las accesiones de *L. macrophylla* presentaron, comparativamente, elevados contenidos de TC y TPP con relación al resto de las evaluadas (41 accesiones), superadas solamente por la fracción fenólica de *L. diversifolia*, *L. esculenta*, *L. pulverulenta*, *L. retusa*, y *L. trichandra*, lo cual pone de manifiesto que *L. macrophylla*, sus híbridos y variedades, presentan una mayor proporción de polifenoles si se comparan con los niveles de taninos de *L. leucocephala*, *L. collinsii*, *L. trichodes*, *L. lanceolata*, *L. multicapitulata* y *L. salvadorensis*

(Hughes y Harris 1995; Jones y Palmer 2002).

When comparing results with those reported in plantations of south west of Queensland (Dalzell *et al.*, 1998), and in a soil Kandisol red (Jones y Palmer 2002), both in Australia, values obtained in these results are low, in quantitative terms of tannins, by saving differences in relation to dry method used by the first one (lyophylization) and the alternative procedure for estimating BT to the second one (complex with PEG-4000).

In a general way, results of poly phenolic profile of ecotypes evaluated of *L. macrophylla* are more consistent with accesions cultured in Latin America in climatic conditions similar to Cuba than those established in Australia under tropical climate.

Nevertheless, in all case, chemical differences are related with phenotypic characteristics of each ecotype (Pineda 2004); since all of them were established in the same edapho climatic conditions and they were submit to the same agronomical management.

Conclusions

Ecotypes evaluated of *L. macrophylla* shows an acceptable nutritional composition for being used like supplementary feeding for ruminants. Accesions could be basically differenced by protein contents, fibrous fraction, tannins, mimosine and rumen degradability. Ca and K levels do not showed substantial variations, so these

(Hughes y Harris 1995; Jones y Palmer 2002).

Al comparar los resultados con los informados en plantaciones del sureste de Queensland (Dalzell *et al.*, 1998), y en un suelo Kandisol rojo (Jones y Palmer 2002), ambas en Australia, los valores obtenidos en estos estudios son inferiores, en términos cuantitativos de taninos, salvando las diferencias en cuanto al método de secado utilizado por el primero (lío-filización) y el procedimiento alternativo para la estimación de los TPP para el segundo (acomplejamiento con PEG-4000).

De forma general, los resultados del perfil polifenólico de los ecotipos evaluados de *L. macrophylla*, son más consistentes con las accesiones cultivadas en Latinoamérica en condiciones climáticas similares a las de Cuba; que las establecidas en Australia bajo clima subtropical.

No obstante, en todos los casos, las diferencias químicas, se encuentran relacionadas con las características fenotípicas de cada ecotipo (Pineda 2004); ya que todas se establecieron en las mismas condiciones edafoclimáticas y fueron sometidas al mismo manejo agronómico.

Conclusiones

Los ecotipos evaluados de *L. macrophylla* presentan aceptable composición nutricional para ser usadas como alimento suplementario para rumiantes. Las accesiones se pueden diferenciar fundamentalmente en los contenidos de proteína, fracción fibrosa, taninos, mimosina y

elementos que no constituyen variables relevantes para comparar ecotipos.

Accesiones CIAT-17240, CIAT-17243 y CIAT-17241 muestran alta calidad nutricional. Ecotipos CIAT-17231, CIAT-17233 y CIAT-17237 mostraron un comportamiento intermedio y la accesión CIAT-17245 mostró los resultados menos satisfactorios.

Un efecto negativo de los taninos y mimosina en el rumen de degradación de DM, CP y NDF fue observado.

End of english version

degradabilidad ruminal. Los niveles de Ca y K no presentaron variaciones sustanciales, por lo que estos elementos no constituyen variables relevantes para comparar los ecotipos.

Las accesiones CIAT-17240, CIAT-17243 y CIAT-17241 presentan mejor calidad nutricional. Los ecotipos CIAT-17231, CIAT-17233 y CIAT-17237 exhibieron un comportamiento intermedio y la accesión CIAT-17245 mostró los resultados menos satisfactorios.

Se observó un efecto negativo de los taninos precipitantes y la mimosina, en la degradación ruminal de la MS, PC y FDN.

Literatura citada

- AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Association of Official Agricultural Chemistry. Washington, D.C., USA. 500 p.
- Ben Salem, H., L. Ben Salem and M.S. Ben Said. 2005. Effect of the level and frequency of PEG supply on intake, digestion, biochemical and clinical parameters by goats given kernel oak (*Quercus coccifera* L.) based diet. *Small Rum. Res.* 56:127-131.

- Clavero, T. 1998. *Leucaena leucocephala*. Alternativa para la alimentación animal. Centro de Transferencia de Tecnología en Pastos y Forrajes. La Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. 78 p.
- Dalzell A.S. and G.L. Kerven. 1998. A rapid method for the measurement of *Leucaena* spp. proanthocyanidins by the proanthocyanidin (butanol/HCl) assay. *J. Sci. Food Agric.* 78:405-416.
- Dalzell A.S., J.L. Stewart, A. Tolera, and D.M. McNeill. 1998. Chemical composition of *Leucaena* and implication for forage quality. In: Shelton H.M., Gutteridger R.C., Mullen B.F., Bray, R.A. Eds. *Leucaena* adaptation, quality and farming systems. ACIAR Proceedings No. 86 pp. 227-246.
- Dalzell A.S. 2000. Genotypic and environmental effects on proanthocyanidin in the *Leucaena* genus. PhD. Thesis University of Queensland, Queensland, Australia 150 p.
- Early, E.B. and E.E. Turk. 1944. Time and rate of synthesis of phytin in corn grain during the reproductive period. *J. Anim. Sci. Agron.*, 36:803-808.
- García, D.E. y M.G. Medina. 2005. Metodología para el estudio de los compuestos polifenólicos en especies forrajeras. Un enfoque histórico. *Zootecnia Trop.*, 23(3):261-296.
- García, D.E., M.G. Medina, F. Ojeda, J. Humbría, C.E. Domínguez, A. Baldizán y O. Toral. 2006a. Variabilidad fitoquímica y repercusión antinutricional potencial en especies del género *Albizia*. *Pastos y Forrajes*, 29(4):231-241.
- García, D.E., M.G. Medina, J. Humbría, C.E. Domínguez, A. Baldizán, L.J. Cova, y M. Soca. 2006b. Composición proximal, niveles de metabolitos secundarios y valor nutritivo del follaje de algunos árboles forrajeros tropicales. *Arch. Zootecnia*, 55(212):373-384.
- García, D.E., H.B. Wencomo, M.G. Medina, L.J. Cova e I. Splenger. 2008. Evaluación de diecinueve ecotipos de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit basada en la calidad nutritiva del follaje. *Zootecnia Trop.*, 26(1):1-10.
- Godoy, S., C.F. Chicco, F. Meschy and F. Requena. 2005. Phytic phosphorus and phytase activity of animal feed Ingredients. *Interciencia*, 30(1):24-28.
- Hernández, A. 1999. Clasificación genérica de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. Ministerio de la Agricultura. AGRINFOR. Ciudad de La Habana, Cuba. 64 p.
- Hidalgo, R. 2003. Variabilidad genética y características de especies vegetales. En: Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos filogenéticos (Franco, T.L. e Hidalgo, T.R. Eds.). Boletín técnico No. 8. Instituto Internacional de Recursos Filogenéticos (IPGRI). Cali, Colombia. 89 p.
- Hughes, C.E. and S.A. Harris. 1995. Systematic of *Leucaena*; Recent findings and implications for breeding and conservation. Proceeding of Workshop. Bogor, Indonesia. ACIAR Proceeding 57 p. 54-65.
- Jones, R. and B. Palmer. 2002. Assessment of the condensed tannins concentration in a collection of *Leucaena* species using ¹⁴C-labelled polyethylene glycol (PEG-4000). *Tropical Grasslands*, 36:47-53.
- Machado, R. 2006. Adaptabilidad de gramíneas y leguminosas en suelos hidromórficos del humedal Ciénaga de Zapata. Establecimiento. *Pastos y Forrajes*, 29(2): 155-167.
- Makkar, H.P.S., R.K. Dawra and B. Singh. 1988. Determination of both tannin and protein in a tannin-protein complex. *J. Agric. Food Chem.*, 36:523-525.

- Makkar, H.P.S., K. Becker, E. Abel and E. Pawelzik. 1997. Nutrient contents, rumen protein degradability and antinutritional factor in some colour- and white-flowering cultivars of *Vicia faba* beans. *J. Sci. Food Agric.*, 45:511-520.
- Makkar, H.P.S. 2003. Quantification of tannins in tree and shrub foliage. A laboratory manual. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. 102 p.
- Matsumoto, H. and G.D. Sherman. 1951. A rapid colorimetric method for the determination of mimosine. *Arch. Biochem. Biophys.*, 33:195-200.
- Mehrez, A.Z. and E.R. Ørskov. 1977. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *J. Agric. Sci. (Cambridge)*, 88:645-649.
- Philippeau, G. 1986. Comment interpréter les résultats d'une analyse en composants principales. Service des Etudes Statistiques. ITCF. Lusignan, France 4 p.
- Pineda, M. 2004. Resúmenes de Fisiología vegetal. Servicios de publicaciones de la Universidad de Córdoba, Córdoba, España. 204 p.
- Porter, I.J., I.N. Hrstich and B.G. Chan. 1986. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry*, 25:223-230.
- Razz, R, T. Clavero y J. Vergara. 2004. Cinética de degradación *in situ* de la *Leucaena leucocephala* y *Panicum maximum*. *Revista Científica FCV-LUZ*, XIV(5):424-430.
- Stewart, J.L. and A.J. Dunsdon. 1998. Preliminary evaluation of potential fodder quality in a range of *Leucaena* species. *Agroforestry Systems*, 40: 177-198.
- Stewart, J.L., A.J. Dunsdon, J.J. Hellin and C.E. Hughes. 1992. Wood biomass estimation of Central American dry zone species. Tropical Institute, University of Oxford, United Kingdom 83 p.
- Visauta, B. 1998. Análisis Estadístico con SPSS para Windows. En: Estadística Multivariante. McGraw-Hill-Interamericana de España. Madrid, España. 200 p.