

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA  
(CATIE)

PROGRAMA DE ENSEÑANZA

AREA DE POSGRADO

EVALUACIÓN DE COMPUESTOS SECUNDARIOS Y CONSUMO VOLUNTARIO DE CINCO PROCEDENCIAS DE *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp, EN DOS ÉPOCAS DEL AÑO, EN EL TRÓPICO HÚMEDO DE COSTA RICA.

Tesis sometida a la consideración del Comité Técnico de Posgrado y Capacitación del Programa de Enseñanza en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, para optar al grado de:

***Magister Scientiae***

por

**SILVIA LÓPEZ ORTIZ**

Turrilaba, Costa Rica.

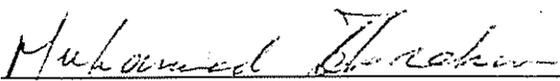
1995

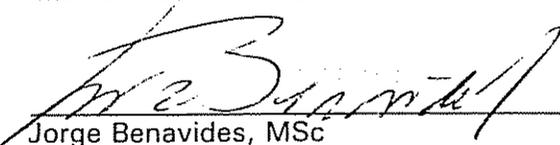
Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma, por la Jefatura del Area de Postgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del CATIE y aprobada por el Comité Asesor del estudiante como requisito parcial para optar al grado de:

**MAGISTER SCIENTIAE**

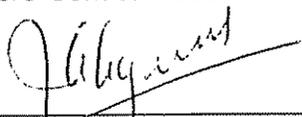
FIRMANTES:

  
\_\_\_\_\_  
Maria Kass, PhD  
Profesor Consejero

  
\_\_\_\_\_  
Múhammad Ibrahim, PhD  
Miembro Comité Asesor

  
\_\_\_\_\_  
Jorge Benavides, MSc  
Miembro Comité Asesor

  
\_\_\_\_\_  
Pedro Ferreira, PhD  
Miembro Comité Asesor

  
\_\_\_\_\_  
Juan Antonio Aguirre, PhD  
Jefe, Area de Postgrado

  
\_\_\_\_\_  
Pedro Ferreira, PhD  
Director, Programa de Enseñanza

  
\_\_\_\_\_  
Silvia López Ortiz  
Candidato

## BIOGRAFIA

El autor nació el 10 de Febrero de 1967 en Macuspana, Tabasco, México.

Realizó sus estudios secundarios en la escuela "Gral. Lázaro Cárdenas" en el estado de Veracruz, México, de 1979 a 1982.

Sus estudios de bachillerato, los realizó en el Instituto Tecnológico Agropecuario No. 17, en el mismo estado de Veracruz, de 1982 a 1985.

En 1985, ingreso al Instituto Tecnológico Agropecuario No. 18, en donde se graduó como Ingeniero Agrónomo Zootecnista, en 1989.

De 1991 a 1993, laboró como Investigador en el Centro Regional de Enseñanza, Capacitación e Investigación para el Desarrollo Agropecuario del Trópico Húmedo, perteneciente al Colegio de Posgraduados, en México.

Ingreso al programa de Posgrado del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza en Enero de 1994 y culminó los estudios en Diciembre de 1995, obteniendo el grado de *Magister Scientiae*, con énfasis en Agroforestería.

...  
...  
...

...  
...  
...  
...  
...

**A la memoria de mi padre**

...  
...  
...

...  
...  
...  
...  
...

## AGRADECIMIENTOS

El autor desea expresar su agradecimiento a los profesores del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, por el esfuerzo invertido en su formación profesional. Especialmente, a los profesores María Kass, Pedro Ferreira, Muhammad Ibrahim y Jorge Benavides, así como a los técnicos Jonhhy Perez y Franklin López, quienes hicieron posible la culminación de este trabajo.

Agradece a la Fundación Kellogg, el financiamiento de sus estudios de posgrado y la seguridad que le infundieron las personas involucradas en su aceptación como becario. También les agradece su esfuerzo por continuar ayudando a las personas a ayudarse a sí mismas, para mejorar su calidad de vida y la de las generaciones futuras.

Expresa su agradecimiento al Instituto Forestal de la Universidad de Oxford, por el aporte de una parte de su colección de germoplasma de *Gliricidia sepium* y por las facilidades económicas brindadas, que fueron tan importantes para la realización de este trabajo.

Finalmente, agradece al Colegio de Posgraduados de México, su institución de origen, el apoyo brindado para continuar su formación profesional. Principalmente al Maestro Carlos Olguín y al Doctor David Riestra, quienes confiaron en su capacidad profesional y en todo momento apoyaron sus decisiones, en aras de la superación personal y de la institución.

# TABLA DE CONTENIDO

1.	<b>INTRODUCCION</b>	1
2.	<b>OBJETIVOS</b>	3
3.	<b>HIPÓTESIS</b>	3
4.	<b>ANTECEDENTES</b>	4
	4.1. Calidad de <i>Gliricidia sepium</i> como forraje	4
	4.1.1 Producción y composición química del follaje de <i>Gliricidia sepium</i>	4
	4.1.2 Consumo del follaje de <i>Gliricidia sepium</i>	7
	4.1.3 Compuestos secundarios en el follaje de <i>Gliricidia sepium</i>	8
5.	<b>EXPERIMENTO 1. Determinación de compuestos secundarios en cinco procedencias de <i>Gliricidia sepium</i>, en dos épocas del año</b>	13
	5.1 Material y métodos	13
	5.1.1 Ubicación del área de trabajo	13
	5.1.2 Material experimental	14
	5.1.3 Descripción de los muestreos	15
	5.1.4 Variables de estudio	16
	5.1.5 Diseño experimental	17
	5.2 Resultados y discusión	19
	5.2.1 Características dasométricas	19
	5.2.2 Composición química	25
	5.2.3 Compuestos secundarios	29
	5.2.4 Correlación entre las variables evaluadas	32

5.2.5	Identificación de grupos genéticos similares	35
6.	<b>EXPERIMENTO 2. Consumo voluntario de seis procedencias de <i>Gliricidia sepium</i> por cabras adultas</b>	47
6.1	Material y métodos	47
6.1.1	Material experimental e infraestructura	47
6.1.2	Conducción del experimento	47
6.1.2.1	Distribución, manejo y alimentación de los animales	47
6.1.2.2	Descripción de los muestreos	48
6.1.3	Variables de estudio	49
6.1.4	Análisis estadístico	49
6.2	Resultados y discusión	51
6.2.1	Composición química y digestibilidad <i>in vitro</i>	51
6.2.2	Consumo de materia seca	52
6.2.3	Correlación entre el consumo de materia seca y la composición química	59
7.	<b>CONCLUSIONES</b>	61
8.	<b>RECOMENDACIONES</b>	62
9.	<b>BIBLIOGRAFIA CONSULTADA</b>	63
10.	<b>ANEXOS</b>	72

López, O. S. 1995. Evaluación de compuestos secundarios y consumo voluntario de cinco procedencias de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp, en dos épocas del año, en el trópico húmedo de Costa Rica. Tesis *Magister Scientiae*. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 78 p.

**Palabras clave:** *Gliricidia sepium*, compuestos secundarios, calidad nutritiva, procedencias, consumo, cumarinas, proantocianidinas, DIVMS, biomasa comestible.

Este estudio se realizó mediante dos experimentos con el objetivo de analizar la concentración de compuestos secundarios en cinco procedencias de *G. sepium* en dos épocas del año, y el efecto de éstos sobre el consumo voluntario de cabras adultas.

**Experimento 1.** Determinación de compuestos secundarios y DIVMS en cinco procedencias de *G. sepium*. Se realizó en la Unidad de Agroforestería y Rumiantes Menores y el laboratorio de Fitoquímica del CATIE, durante los meses de Octubre de 1994 a Julio de 1995. Se utilizó una plantación con cinco procedencias colectadas por el Instituto Forestal de la Universidad de Oxford: 124-91 (Guatemala); 125-91 (Guatemala); 126-91 (Nicaragua); 32-92 (Colombia) y 4-92 (Nigeria). Al iniciar el trabajo, la plantación tenía 2 años de establecida y se le practicó una poda de uniformización (40-50cm de altura) el 13 de mayo de 1994, para disponer de follaje con cinco meses de edad, al inicio del experimento. Se realizaron dos muestreos de la biomasa comestible de las cinco procedencias. En Octubre de 1994 (mayor precipitación) y en Marzo de 1995 (menor precipitación), colectando al azar 20 plantas de cada procedencia. Se extrajo una muestra de cada planta para realizar los análisis: cumarinas ( $\text{mg g}^{-1}$  MS), proantocianidinas (PA,  $\text{ABS}_{550} \text{g}^{-1}$  MS), y otros análisis rutinarios como: pared celular (PPC, %), proteína cruda (PC, %) y digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS, %). Estos análisis junto con altura de planta (m), producción de materia seca ( $\text{g planta}^{-1}$ ), relación hoja:tallo y número de ramas fueron las variables de estudio. El análisis de datos siguió un modelo de parcelas divididas en el tiempo, aplicando pruebas de Tukey y *t* (dms) para las comparaciones múltiples. Se realizó un análisis de conglomerados para identificar grupos genéticos homogéneos entre las procedencias, aplicándolo a cada época por separado, debido a la variación encontrada en los individuos de una época a otra.

Todas las variables evaluadas presentaron diferencias entre procedencias y a través de las épocas, con excepción de cumarina, la cual varió únicamente entre procedencias ( $P < 0,01$ ). La producción de materia seca, altura de planta y PPC tendieron a disminuir en la época seca, mientras que número de ramas, relación hoja:tallo, PC y DIVMS aumentaron. En base a esto, se identificó a las procedencias 4, 124 y 125 como las más productivas, más altas y mayor contenido de PC; las procedencias 4, 32 y 124 con la mayor relación hoja:tallo y número de ramas; las procedencias 4, 32 y 125 con menor contenido de PPC y PA y mayor DIVMS. Por su parte, la procedencia 126 presentó el más alto contenido de cumarina. El análisis de conglomerados formó cuatro grupos de individuos de las cinco procedencias en ambas épocas estudiadas. Se observó un comportamiento diferente de los plantas de algunas procedencias entre épocas. En la época húmeda el grupo 1 fué superior en producción de materia seca, altura, DIVMS y PC, este incluyó todas las plantas de la procedencia 125 y 4, y representantes de otras procedencias. En la época seca, los grupos 1 y 2 presentaron la mayor producción de materia seca, PC y DIVMS, agrupando en su mayoría plantas de las procedencias 32 y 125. Aunque las plantas de todas las procedencias tienden a disgregarse, la mayoría de las procedencias lo hicieron en grupos consecutivos, lo cual denota variación

pequeña entre sus individuos. Las variables cumarina, altura, PC, DIVMS y PA tuvieron el mayor poder discriminante para separar grupos en ambas épocas.

**Experimento 2.** Consumo voluntario de seis procedencias de *Gliricidia sepium*. Se realizó al mismo tiempo que el experimento 1. Se utilizaron las cinco procedencias de *G. sepium* mencionadas en el experimento 1, además de la procedencia CATIE. Doce cabras adultas con un promedio de  $38 \pm 4,5$  kg de peso vivo (PV) fueron confinadas en corrales individuales, y sometidas a un periodo de adaptación de 10 días, al follaje de las procedencias de *Gliricidia sepium*. Durante el periodo de medición (10 días) las procedencias se ofrecieron *ad libitum* en comederos individuales que se sortearon diariamente; adicionalmente se proporcionó una mezcla de banano verde (*Musa spp*) y pasto King grass (*P. purpureum x P. typhoides*) a razón de 1% de MS en relación al PV, agua y sales minerales *ad libitum*. Se pesaron diariamente las cantidades de forraje ofrecido y rechazado. En los días 1, 5 y 10 de cada periodo de medición se tomó una muestra del follaje ofrecido y rechazado de cada procedencia para los análisis de laboratorio. Las variables de estudio fueron: a) consumo de MS de las seis procedencias (% del PV); b) relación entre el consumo de MS y la concentración de cumarinas ( $\text{mg g}^{-1}$  de MS) y proantocianidinas (PA,  $\text{ABS}_{550\text{g}^{-1}}$  MS). El análisis de datos se basó en las diferencias dos a dos de la materia seca consumida de cada procedencia por cada cabra (% del PV). Para cada animal se calcularon las  $(2^6) = 15$  diferencias. Se aplicó la prueba *t* (dms) para evaluar la significancia de las diferencias correspondientes a cada uno de los pares de procedencias. Se efectuaron correlaciones entre el consumo y los compuestos secundarios. Se realizó también un análisis multidimensional de preferencias (2), convirtiendo los consumos de cada animal en rangos (1 a 6) indicando niveles de preferencia.

El consumo de MS fué mayor para la procedencia CATIE (0,70% PV), seguida por la 124 (0,44% PV) y 125 (0,43% PV), mientras que las procedencias 126, 4 y 32, tuvieron un consumo menor (0,42, 0,40 y 0,37% PV, respectivamente) a la del CATIE e igual a la 124 y 125 ( $p < 0,05$ ). Según el análisis de preferencias multidimensional, las procedencias no mostraron el mismo orden de preferencias que de consumos. El orden de preferencias en forma descendente es: CATIE, 124, 126, 32, 125 y 4, significando que una procedencia puede tener mayor consumo promedio, pero ser preferida por un número menor de cabras. Los consumos totales variaron entre 2,68 y 4,28% del PV. Únicamente la concentración de cumarinas se correlacionó en forma negativa y baja, pero significativamente, con el consumo ( $r = -0,18$ ).

Las procedencias de *G. sepium* evaluadas presentan niveles adecuados de PC y DIVMS para utilizarse en la alimentación de rumiantes. Las procedencias presentan contenidos de PA diferentes que varían entre épocas del año, y de cumarina que solo varía entre procedencias. La concentración de cumarina tiene un efecto negativo y bajo sobre el consumo de MS de los animales. El consumo y la preferencia de los animales son conceptos diferentes a los que se debe dar importancia cuando se evalúan especies con calidad forrajera desconocida; la conducta preferencial de los animales puede quedar encubierta y tomarse decisiones erróneas sobre la calidad de una dieta.

López O.S. 1995. Evaluation of secondary compounds and voluntary intake of five *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp provenances, in two seasons, in the humid tropic of Costa Rica. *Magister Scientiae* Thesis. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 78 p.

Key words: *Gliricidia sepium*, secondary compounds, nutritive value, provenances, intake, coumarins, proanthocyanidins, IVDMD, biomass production.

Two experiments were carried out to evaluate secondary compounds concentration in five *Gliricidia sepium* provenances, in two seasons of the year and their effect on foliage voluntary intake by adults goats.

Experiment 1. Secondary compounds concentration and IVDMD of five *Gliricidia sepium* provenances in two seasons.

This experiment was carried out in the CATIE's Agroforestry and Small Ruminants Unity and Phytochemistry Laboratory, between October, 1994 and July, 1995. The five *Gliricidia sepium* provenances were collected by the Forestry Institute of Oxford University: 4-92, 32-92, 124-91, 125-91 y 126-91. The plantation was two years old, and at the perimentttation period the plants were pruned to 40-50 cm height in order to have a five month old regrowth at the beginning of sampling. The first was in October, 1994 (high precipitation season) and the second in march, 1995 (low precipitation season) by collecting twenty plants from each provenance. Each plant was analyzed for: coumarins ( $\text{mg g}^{-1}$  DM), proanthocyanidins ( $\text{ABS}_{550\text{nm}}^{-1}$  DM) and routinary bromatological analysis such as: cell wall content (% CW), crude protein (%CP) and *in vitro* dry matter digestibility (% IVDMS), and dasometrical measurements: plant height (m), biomass production (g planta<sup>-1</sup>), leave:stem ratio and number of branches.

The data was statistically analyzed as split-plot design and means were compared by Tukey and *t* test. In order to identify homogeneous genetic groups between the provenances, it was also carried out a cluster analysis for each season separately, due to the variation between plants in the two seasons.

All variables studied presented statistical differences ( $p < 0,01$ ) between provenances and seasons, except coumarin concentration that varied only between the five different provenances. Biomass production, plant height and CW decreased in the low precipitation season as branches number, leave:stem ratio, %CP and %IVDMS increased. The provenances 4, 124 and 125 had the high biomass production, plant height and %CP, provenances 4, 32 and 124 had high leave:stem ratio and branches number; provenances 4, 32 y 125 low %CW and PA, and the high %IVDMD. By the other hand , provenance 126 presented the high coumarin content. The Cluster analysis for both seasons formed four groups with plants from all provenances, but it was observed differences between seasons. In the high precipitation season, plants in the first group were superior on biomass production, %IVDMD and %CP. In the low precipitation season there was two groups (provenances 32 and 125) with high dry production, %CP and %IVDMD. To spite of plant variation within the provenances, the plants from the same provenances to concentrated in consecutive groups, showing that this variation was not very large. Variables as coumarins,

height, %CP, %IVDMD and proanthocyanidins had the major discriminatory effect on group separation in the Cluster analysis.

#### Experiment 2. Voluntary intake of six provenances of *Gliricidia sepium*.

This experiment was carried out at the same time as experiment 1, and it was utilized the same provenances of the previous experiment plus a provenance from CATIE. Twelve goats weighting  $38 \pm 4$  kg were confined individually, during 10 days of adaptation period to *Gliricidia sepium* foliage consumption. After this period, for another 10 days the goats were offered each provenance individually and *ad libitum* in separated compartments. In both periods, the goats received a mixture of chopped King grass (50%) and green banana fruit (50%) at 1% body weight in dry matter, and water and mineral mixture *ad libitum*.

The foliage offered and refusals were weighted daily, and both were sampled at days 1, 5 and 10 of the measurement period, for laboratory analysis. The variables studied were: a) dry matter intake (% BW), b) relationship between dry matter intake and secondary compounds concentration. The data analysis were based in two differences between dry matter intake for each provenance by each goat (% BW). For each animal it was calculated the 15 differences. To evaluate the significance between the differences for each provenance pair, it was applied the *t* test. Correlations between intake and secondary compounds concentration were carried out, with a multidimensional analysis, expressing each animal intake in rangos (1 to 6) which indicated animal preference for the provenances.

The highest intake was for CATIE's provenance (0,70% BW), followed by provenances 124 (0,44% BW), and 125 (0,43% BW), provenances 126, 4 and 32 had a lower intake than CATIE's provenances, but were significantly ( $p < 0,05$ ) similar to provenances 124 and 125. By the other hand, the preference analysis showed that again CATIE's provenance, was the most chosen foliage, followed by decreasing order by 124, 126, 32, 125 and 4, showing that preference and intake are different parameters. The total intake range from 2,7 to 4,3% LW, but only coumarin concentration showed a negative but low correlation with intake ( $r = -0.18$ ).

In conclusions, all provenances studied are adecuated as ruminant feed. Secondary compounds concentration varied between provenances but only coumarins was not affected by the seasons, and had a low negative effect on voluntary intake. Intake and preference are different parameters, that have to be considered together when evaluating forage quality.

## LISTA DE CUADROS

No. Cuadro		Página
1	Producción de materia seca en cinco procedencias de <i>Gliricidia sepium</i> , en dos épocas del año.	20
2	Variables dasométricas medidas en cinco procedencias de <i>Gliricidia sepium</i> , en dos épocas del año.	22
3	Composición química del follaje de cinco procedencias de <i>Gliricidia sepium</i> , en dos épocas del año.	26
4	Correlaciones significativas entre las variables evaluadas en cinco procedencias de <i>Gliricidia sepium</i> .	33
5	Comparación de medias de las variables que influyeron en la separación de grupos de plantas, en el análisis cluster de la época húmeda.	36
6	Distribución de frecuencias en los grupos de plantas formados por el análisis cluster en las épocas húmeda y seca.	37
7	Comparación de medias de las variables que influyeron en la separación de grupos de plantas en el análisis cluster de la época seca.	38
8	Coefficientes de correlación entre las variables canónicas y las variables originales, en la época húmeda (primer análisis canónico).	39
9	Coefficientes de correlación entre las variables canónicas y las variables originales, en la época seca (primer análisis canónico).	41

10	Coeficientes de correlación entre las variables canónicas y las variables originales, para ambas épocas (segundo análisis canónico).	43
11	Calidad nutritiva promedio de los componentes de la dieta suministrada a las cabras durante el período experimental.	51
12	Consumo de seis procedencias de <i>Gliricidia sepium</i> ofrecidas en cafetería a cabras adultas (% PV).	52
13	Distancias Euclidianas entre las cabras y las seis procedencias de <i>Gliricidia sepium</i> ofrecidas en cafetería a cabras adultas.	54
14	Distribución de frecuencias de los consumos de las cabras en los grupos formados por el análisis cluster.	56

## LISTA DE FIGURAS

No. Figura		Página
1	Precipitación mensual durante los meses de Junio de 1994 a Junio de 1995.	14
2	Concentración de proantocianidinas en cinco procedencias de <i>Gliricidia sepium</i> en dos épocas del año.	30
3	Concentración de cumarinas en el follaje de cinco procedencias de <i>Gliricidia sepium</i> .	31
4	Representación de plantas de diferentes procedencias de <i>Gliricidia sepium</i> en los planos formados por las primeras variables canónicas en la época húmeda (primer análisis canónico).	40
5	Representación de plantas de diferentes procedencias de <i>Gliricidia sepium</i> en los planos formados por las primeras variables canónicas en la época seca (primer análisis canónico).	42
6	Representación de plantas de diferentes procedencias de <i>Gliricidia sepium</i> en los planos formados por las primeras variables canónicas en la época húmeda (segundo análisis canónico).	44
7	Representación de plantas de diferentes procedencias de <i>Gliricidia sepium</i> en los planos formados por las primeras variables canónicas en la época seca (segundo análisis canónico).	46
8	Ordenes de preferencias para las seis procedencias de <i>Gliricidia sepium</i> ofrecidas en cafetería a cabras adultas.	53

9	Consumo diario de una cabra para seis procedencias de <i>Gliricidia sepium</i> ofrecidas en cafetería.	55
10	Consumo total (follaje + pasto-banano) y de follaje de <i>Gliricidia sepium</i> ofrecidos en cafetería a 12 cabras adultas.	58

## 1. INTRODUCCION

La utilización de *Gliricidia sepium* en sistemas agrosilvopastoriles ha venido cobrando gran interés en los últimos años. Se considera que esta especie puede contribuir en gran manera a mejorar la productividad, diversidad y sostenibilidad de los ecosistemas marginales. Sus atributos como árbol fijador de nitrógeno, árbol de sombra en cultivos de plantación, cercas y setos vivos, fuente de leña y de alimento para el ganado, han propiciado una serie de estudios sobre su fenología, productividad, calidad nutritiva del follaje y variabilidad genética, para mejorar su manejo en sistemas agrícolas intensivos.

A través de los años, los agricultores han movilizado germoplasma de *Gliricidia sepium* a regiones diferentes a su origen, los cuales han experimentado un proceso de adaptación al medio, ocasionando variaciones genéticas entre las diferentes poblaciones. Entre estas variaciones pueden citarse la tasa de crecimiento, la forma del árbol, la habilidad para rebrotar, la calidad del forraje y la madera, la resistencia al ataque de plagas y enfermedades y la tolerancia a condiciones de sequía, bajas temperaturas, acidez o salinidad del suelo.

Los trabajos más recientes están enfocados a dividir la variabilidad genética de esta especie entre y dentro de poblaciones o procedencias, mediante la combinación de pruebas agronómicas, morfológicas y bioquímicas, que servirán de base en futuros programas de mejoramiento genético. A través de estas investigaciones se han detectado características susceptibles de aislar de las poblaciones en que se han encontrado, que son muy importantes para el desarrollo de cultivares para medio ambientes y condiciones de manejo específicos.

Como recurso forrajero, esta especie muestra excelentes características químico-nutricionales, sin embargo, se ha detectado que la calidad y el consumo del follaje por el ganado, difiere entre procedencias. Se ha comprobado el efecto de algunos compuestos secundarios presentes en esta especie sobre el consumo, sin embargo, se requiere conocer mejor las interrelaciones que puedan existir entre ellos.

El Instituto Forestal de Oxford en cooperación con otras instituciones nacionales e internacionales ha montado una colección de germoplasma de *Gliricidia sepium* procedente de diferentes lugares de México, América Central, Panamá y África, con el objetivo de estudiar el comportamiento de esas procedencias en medios ambientes diferentes a su origen y detectar posibles variaciones entre ellas.

El Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) ha realizado investigaciones con las procedencias de *Gliricidia sepium* que se tienen en el mismo Centro y en la zona Atlántica de Costa Rica, que son parte de la colección del Instituto Forestal de Oxford, sobre la variabilidad genética de esta especie, principalmente a través de medidas de productividad, variables dasométricas, composición química, digestibilidad *in vitro* de la materia seca y aceptación por el ganado.

En este trabajo se presentan los resultados de una evaluación de procedencias de *Gliricidia sepium* establecidas en el CATIE, destacando su adaptación ecológica al trópico húmedo de Costa Rica y su calidad como fuente de forraje para el ganado.

## 2. HIPOTESIS

Diferentes procedencias de *Gliricidia sepium* poseen distintas concentraciones de compuestos secundarios (proantocianidinas y cumarinas) y estas concentraciones varían bajo el mismo patrón entre y dentro de procedencias por efecto de la época del año.

El follaje de diferentes procedencias de *Gliricidia sepium* ofrecidas *ad libitum* tiene diferente aceptación por cabras adultas por efecto de la concentración de compuestos secundarios.

## 3. OBJETIVOS

Determinar la concentración de compuestos secundarios en el follaje de cinco procedencias de *Gliricidia sepium*, en las épocas de mayor y menor precipitación pluvial.

Determinar variaciones en el consumo voluntario de cabras adultas por el efecto de las procedencias de *Gliricidia sepium*.

Evaluar el efecto de los compuestos secundarios sobre el consumo del follaje de seis procedencias de *Gliricidia sepium*.

## 4. ANTECEDENTES

*Gliricidia sepium* está ampliamente distribuida en las zonas tropicales, más allá de los límites de su origen (sureste de México y Centroamérica). Las poblaciones naturales de esta especie se caracterizan por tener diferentes estructuras genéticas y por originarse en medios ambientes distintos, ocasionando diferencias en las características morfológicas, químicas y productivas que muchas veces limitan su utilización en los sistemas de producción agrícola (Chamberlain y Galwey, 1993). Debido a esta diferenciación se ha convenido en llamar con el término "procedencia" al germoplasma encontrado en un lugar geográfico y que presenta patrones de comportamiento diferentes al germoplasma de otros lugares; así mismo se identifican familias que difieren entre sí dentro de una misma procedencia y también diferencias en el comportamiento de individuos dentro de familias (Mendieta, 1989; Ruíz, 1992; Bray *et al.*, 1993; Larby *et al.*, 1993; Benneker y Vargas, 1994).

### 4.1 Calidad de *Gliricidia sepium* como forraje.

#### 4.1.1 Producción y composición química del follaje.

*Gliricidia sepium* es un árbol de gran utilidad para la producción animal en regiones tropicales donde el forraje escasea en la época seca y se hace necesario contar con fuentes de alimentos suplementarios. Bajo régimen de podas, es un árbol de rápida recuperación que mantiene su crecimiento vegetativo durante la época seca (Hernández, 1988; Adejumo, 1992).

Diversas investigaciones han demostrado el potencial de esta especie para la producción de biomasa, sin embargo, diferencias entre procedencias, medio ambiente y manejo afectan su producción considerablemente. El rendimiento de materia seca total de esta especie en cercas vivas (1,35 m entre árboles) ha llegado a 2,79 ton km<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (CATIE, 1989) y en bancos de proteína (0,65 m entre árboles) hasta 15,9 ton de MS total ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> en el trópico húmedo de Costa Rica (CATIE, 1991). Adejumo (1992) al realizar podas al final de la época húmeda,

obtuvo rendimientos hasta de 7,13 ton ha<sup>-1</sup> de MS total en una plantación de cuatro años de edad en la estación seca del sureste de Nigeria. Cobbina y Atta-Krah (1992) en otro estudio, también realizado en Nigeria con 28 procedencias, reportan producciones de biomasa comestible entre 4 y 5 ton de MS ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> con 4 podas anuales. Mientras que Perera *et al.* (sin publicar) encontraron entre 1,5 y 2,6 ton ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> de biomasa comestible en 15 procedencias evaluadas en Sri Lanka con plantas de 1 año de edad. Asimismo, Ella *et al.* (1991) reportan que la edad al primer corte de las plantas, tiene correlación directa con la producción subsecuente de las mismas, de tal forma que a una mayor edad de corte se espera mayor producción.

Por su parte, Bray *et al.* (1993) evaluaron el rendimiento de biomasa comestible de 28 procedencias de la colección de Oxford en dos ambientes diferentes (alta y baja precipitación anual), obteniendo producciones hasta de 13 ton ha<sup>-1</sup>; en ese estudio, también demostraron el efecto del medio ambiente sobre el rendimiento de biomasa en diferentes procedencias. Los resultados anteriores coinciden con lo encontrado por Camacho (1991) en un estudio del comportamiento productivo de diferentes procedencias y familias de *Gliricidia sepium* establecido en condiciones de trópico húmedo de Costa Rica, en el cual, la producción de biomasa fué diferente entre los ecotipos y entre las familias estudiadas; sin embargo, la mayor variación correspondió a individuos dentro de las familias de las procedencias. También Cobbina y Atha Krah (1992) en Nigeria y Mendieta (1989) en Costa Rica, observaron una gran variación entre procedencias, además los primeros autores, observaron aptitudes diferentes entre las procedencias para adaptarse a distintas condiciones ambientales, ocho de ellas mostraron crecimiento aceptable de hojas durante el inicio de la estación seca y tres tuvieron potencial para la producción de forraje en ambientes tanto con bajas como con altas precipitaciones.

La producción de biomasa también se ha encontrado de gran utilidad para estudiar la variabilidad genética entre procedencias. Chamberlain y Galwey (1993), quienes también observaron diferencias en producción entre procedencias, aseguran la confiabilidad en este parámetro para detectar variación genética entre procedencias. Asimismo, Mendieta (1989) al evaluar las variables dasométricas de algunas procedencias y familias de *Gliricidia sepium*, identificó agrupamientos suficientemente diferentes en cuanto a la producción de biomasa, y por medio de ésto asumió que las procedencias son genotipos diferentes. Por otra parte, Bray

*et al.* (1993) reportan una correlación positiva entre la producción de biomasa y la DIVMS, lo cual hace pensar que pueden seleccionarse procedencias con alto rendimiento y digestibilidad con fines de producción de forraje.

El valor nutritivo de los forrajes es dividido convencionalmente por los nutricionistas en tres componentes: digestibilidad, eficiencia energética y consumo (Van Soest, 1994). Estos parámetros están relacionados con la composición química del forraje. A pesar de que el consumo y eficiencia son los mayores responsables de la respuesta animal, también son los más afectados por la variabilidad entre animales, haciéndose más difíciles de medir y por lo tanto, la composición química y la digestibilidad son los parámetros más estudiados en la evaluación de forrajes.

En cuanto a la composición química de la biomasa comestible de *Gliricidia sepium*, se reportan contenidos de proteína cruda entre 20 y 27% (Hernández, 1988; Adejumo, 1992; Ruíz, 1992; Cobbina y Atta-Krah, 1992; Mendieta, 1989;); la pared celular entre 30.9 (Urriola, 1994) y 59% (Camero, 1991; Ruíz, 1992; Mochiutti, 1995) y una digestibilidad *in vitro* de la materia seca entre 50 y 70% (Hernández, 1988; Mendieta, 1989; Adejumo, 1992; Ruíz, 1992), dependiendo de la época del año, principalmente en zonas donde la producción de forraje es estacional (Adejumo, 1992).

Los contenidos de minerales que se han encontrado en el follaje de esta especie, en general se consideran adecuados para el mantenimiento de los animales. Adejumo (1992) encontró niveles aceptables de Ca, Mg, K, Na y F, pero bajos de P, Cu, Zn y Mn en una procedencia evaluada en Nigeria a diferentes edades de corte; sin embargo, esto dependerá de otros factores de producción, ya que Cobbina y Atta Krah (1992) detectaron niveles bajos de minerales que Adejumo (1992) reporta como adecuados para la dieta de animales.

El contenido de nutrientes así como la DIVMS dependerá de varios factores tales como el tipo de suelo y manejo, pero principalmente de las procedencias manejadas. Mendieta (1989), Cobbina y Atta Krah (1992) y Bray *et al.* (1993) detectaron diferencias en estas variables entre procedencias.

#### 4.1.2 Consumo del follaje de *Gliricidia sepium*.

La gustocidad y consecuentemente el consumo de los forrajes es un fenómeno complejo influenciado por la relación animal-planta-medio ambiente. La gustocidad es definida por Marten (1978) como una característica de la planta que provoca su selección entre dos o más forrajes, esta selección dependerá también del animal y el medio ambiente que estimulan un consumo selectivo por el animal.

Se ha intentado evaluar al consumo de *Gliricidia sepium* por diferentes especies de animales. En cabras, Ifut (1989) reporta un consumo de 46,3 g kg<sup>75</sup>; en ovinos, Reynolds y Adeoye (1986) citados por Atta Krah y Sumberg (1988), reportan un consumo de 450 g de MS animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>; Camero (1991) reporta un consumo de 3,1 kg de MS/100 kg de PV en vacas lecheras. Todos estos autores coinciden en que la productividad de los animales alimentados con este follaje, se mejora al suplementarlos con fuentes de energía.

Por otro lado, el consumo de *Gliricidia sepium* puede diferir entre procedencias, así por ejemplo, Ruíz (1992) estudiando la aceptabilidad por ovinos del follaje de *Gliricidia sepium*, utilizando las procedencias sobresalientes en producción de forraje identificados en el estudio de Mendieta (1989), encontró diferencias en la aceptabilidad del forraje dentro de procedencias, familias e individuos de esta especie, a pesar de que los materiales presentaban prácticamente la misma composición química y digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

Por su parte, De la Fuente (1990) al estudiar el consumo de cabras alimentadas con ensilaje de *Gliricidia sepium* procedente de dos regiones geográficas de Costa Rica, también encontró que las cabras mostraron un consumo mayor del ensilaje en una de las procedencias, aún cuando la composición química de ambas fué similar. Igualmente, Rodríguez *et al.* (1994) al evaluar la producción de leche en cabras alimentadas con follaje de *Gliricidia sepium* procedente de Turrialba, observaron que el consumo del follaje decayó abruptamente cuando se proporcionó follaje procedente de la región de Guápiles.

Larbi *et al.* (1993) utilizando ovinos para estudiar la aceptabilidad relativa de procedencias de *Gliricidia sepium* colectada en América Central y el Oeste de Africa, detectaron diferencias entre procedencias de las diferentes regiones geográficas, así como un comportamiento

similar entre aquellas procedentes de la misma región, siendo las de Costa Rica y México las de mayor y menor consumo, respectivamente.

Recientemente Benneker y Vargas (1994) en Colombia, encontraron consumos diferentes entre procedencias de *Gliricidia sepium*, al trabajar con ovinos alimentados con cogollo de caña a los cuales se ofreció follaje de cinco procedencias, sujetas a un mismo manejo y bajo las mismas condiciones.

En algunas investigaciones, se ha tratado de valorar el potencial de *Gliricidia sepium* para la producción de carne y leche. Con este propósito, Benneker y Vargas (1994) ofreciendo varias procedencias a ovinos jóvenes, observaron una ganancia diaria de 85 g animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>. Por su parte Reynolds y Adeoye (1986) citado por Atta-Krah y Sumberg (1988), al suplementar ovinos cuya dieta basal consistía en *Panicum maximun*, observó un incremento de 55% en la productividad de los animales, mientras que Ifut (1989) reporta una ganancia de 52 g día<sup>-1</sup> también en ovinos suplementados con una fuente de energía. Camero (1991) al ofrecer el follaje a vacas lecheras, observó una producción de 7,8 kg de leche día<sup>-1</sup>, con una dieta a base de heno de Jaragua (*Hyparrhenia rufa*); por otra parte, Rodríguez *et al.* (1994) encontró una producción de 1,1 kg de leche animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> en cabras alimentadas con el follaje de *Gliricidia sepium* y suplementadas con banano.

Las observaciones anteriores ponen de manifiesto la calidad de *Gliricidia sepium* como árbol forrajero; sin embargo, los resultados obtenidos de las investigaciones realizadas son inconsistentes, principalmente debido a diferencias en el consumo entre procedencias, demostrando la necesidad de estudiar los factores que podrían estar influyendo en este parámetro tan importante en la determinación del valor nutritivo de forrajes.

#### 4.1.3 Compuestos secundarios en el follaje de *Gliricidia sepium*.

La calidad forrajera de un especie no solamente esta definida por su contenido de nutrientes y su digestibilidad, sino que también está supeditada a la presencia de compuestos químicos que estén afectando su aceptabilidad y consumo (Marten, 1978; Molyneux y Ralphs, 1992). En la mayoría de los casos se conoce la naturaleza y la distribución temporal y espacial de las

toxinas o compuestos secundarios dentro de la planta, pero las interrelaciones que existen entre tales compuestos y la aceptabilidad de las plantas ha sido más difícil de comprender.

Se ha establecido la existencia de algunos compuestos que podrían estar afectando la calidad del follaje de *Gliricidia sepium*, como las saponinas (Onwuka, 1992), flavonoides (taninos, gliricidol y proantocianidinas), anilpropanoides (cumarinas, ácidos ortocumárico y melilótico) e isoflavonoides (Griffiths, 1962; Kass, 1991).

Las saponinas son terpenoides, clasificados por Harborne (1993) como toxinas no-nitrogenadas, que pueden afectar a peces e insectos, sin embargo, recientemente se ha comprobado que también pueden afectar a especies mayores (Onwuka, 1992).

Los flavonoides (taninos) son compuestos fenoles polimerizados con un peso molecular mayor a 500 (Kumar y Vaithyanathan, 1990; Hagerman *et al.*, 1992) y que se encuentran en el follaje de *Gliricidia sepium* al igual que en muchas otras leñosas forrajeras (Reed, 1986; Onwuka, 1992; Van Soest, 1994). Los taninos son clasificados en dos grandes grupos: taninos hidrolizables y taninos condensados o proantocianidinas (Kumar y Vaithyanathan, 1990; Hagerman *et al.*, 1992).

Los taninos hidrolizables son los compuestos polimerizados de menor peso molecular y fácilmente hidrolizables en el ambiente ruminal. El efecto negativo de los taninos hidrolizables sobre el consumo y la digestibilidad de los forrajes, está relacionado con la precipitación de proteínas salivales provocando un efecto astringente en la boca de los animales y la formación de compuestos tóxicos en el rumen, tales como el ácido gálico o ácido elágico (Kumar y Vaithyanathan, 1990).

Las proantocianidinas, son el tipo más común de taninos en el forraje de leguminosas herbáceas, mayormente asociados con el sistema de defensa de las plantas (Kumar y Singh, 1984; Robins *et al.*, 1987). Estos compuestos presentan afinidad con las proteínas de mayor peso molecular, a las cuales se unen inicialmente por puentes de hidrógenos e interacciones hidrofóbicas y más tarde por interacciones covalentes (Tanner *et al.*, 1994). Estas interacciones impiden la colonización del forraje por las bacterias ruminales, teniendo efectos negativos sobre la digestibilidad de las proteínas y la materia seca, y a su vez sobre el

consumo de materia seca (Barry y Duncan 1984; Barry, 1985; Ahn *et al.*, 1989; Reed *et al.*, 1990; Hagerman *et al.*, 1992; Tanner *et al.*, 1994).

No obstante los efectos negativos de los taninos, está latente la hipótesis de que en moderadas cantidades estos compuestos protegen a las proteínas de la degradación ruminal, permitiendo una absorción mayor en el intestino, aunque esto no ha sido probado (Hagerman *et al.*, 1992).

Se ha comprobado que la concentración de ambos grupos de taninos en el follaje de *Gliricidia sepium* difiere con la edad y entre las distintas partes de las plantas (López, 1994; Mochiutti, 1995); sin embargo, la diferencia más importante es la que existe entre las procedencias de distintas regiones geográficas (Urriola, 1994; López, 1994).

Benneker y Vargas (1994) encontraron consumos diferentes de follaje de *Gliricidia sepium* de varios ecotipos bajo un régimen de manejo similar y sugieren que tales ecotipos producen diferentes tipos y/o concentraciones de metabolitos secundarios que le permiten al animal diferenciar y preferir unos sobre otros. Por su parte, Ruiz (1992) correlacionó el consumo voluntario de ovinos jóvenes con la concentración de taninos en el follaje de procedencias, familias e individuos de *Gliricidia sepium*, encontrando una relación negativa entre estos parámetros; también observó que las concentraciones difieren entre las procedencias, las familias y principalmente entre individuos de la misma familia. Las concentraciones que encontró varían entre 3,0 y 8,0% de taninos solubles y 0,04 y 0,43% de taninos condensados. Contrariamente, Onwuka (1992) encontró un coeficiente de correlación bajo ( $r=0,39$ ) entre la concentración de taninos y el consumo de materia seca por cabras, cuando estudió los contenidos de taninos de especies de ramoneo en Nigeria; así mismo, reporta una concentración de 0,03% de taninos en el follaje de *Gliricidia sepium* colectado en un solo muestreo.

El conocimiento sobre la distribución física y temporal de los compuestos secundarios dentro de las plantas también es importante por la aplicación que puedan tener en el manejo de las podas de *Gliricidia sepium* para fines forrajeros. López (1994), evaluó dos procedencias de *Gliricidia sepium* en el tropico húmedo de Costa Rica, encontrando que entre 1 y 4 meses de edad, la concentración de proantocianidinas varió a través del tiempo y entre plantas; sin

embargo, fué evidente que la concentración de taninos en todas las edades fué mayor para hojas nuevas, siguiéndole hojas maduras y tallos tiernos. Asimismo, Urriola (1994) en un trabajo similar observó un aumento en la concentración de proantocianidinas al aumentar la edad de los rebrotes de *Gliricidia sepium*.

Las cumarinas son un grupo grande de compuestos naturales que se encuentran presentes en muchas especies leguminosas, formando parte de su sistema de defensa (Harborne 1993, Van Soest, 1994). El ácido cinámico y sus derivados son intermediarios en la formación de diferentes tipos de cumarinas, denominadas también fenilpropanoides, y son la base para la formación de la lignina por polimerización. La mayoría de esos metabolitos secundarios se dan en las plantas en la forma de ésteres o éter de azúcares, siendo liberados por hidrólisis con ácidos y bases débiles (Harborne, 1991).

El producto de la fermentación de las cumarinas, el dicumarol, tiene acción hemorrágica (Van Soest, 1994). Sin embargo, el efecto de las cumarinas puede ser simplemente el de conferir un olor desagradable al follaje de ciertas especies forrajeras, lo cual se piensa causa el rechazo del follaje por los animales (Griffiths, 1962; Van Soest, 1994). Al respecto, Gray y Waterman (1978) detectaron que el consumo, y aún el contacto externo con material de las plantas que contienen cumarinas, producen un efecto detrimental sobre los organismos que no están adaptados a este compuesto químico. Otras investigaciones han confirmado que las cumarinas además del olor penetrante y desagradable, confieren un sabor amargo al forraje, disminuyendo su consumo por los animales (Davis *et al.*, 1962). En *Gliricidia sepium*, la naturaleza y la cantidad de cumarinas varía de acuerdo a la edad fisiológica del follaje, siendo en las hojas jóvenes donde se encuentra grandes cantidades de ácido o-cumárico y cumarina. Estas cantidades decrecen hacia la senescencia dando paso a la formación de ácido melilótico (Griffiths, 1962; López, 1994).

Urriola (1994), evaluó el contenido de cumarinas en el follaje de cinco procedencias de *Gliricidia sepium* de Costa Rica, encontrando valores de entre 5,5 y 6,6 mg g<sup>-1</sup> de MS. López (1994) también evaluó el contenido de cumarinas en dos procedencias de *Gliricidia sepium* de Guatemala, establecidas en el tropico húmedo de Costa Rica, encontrando valores de 5 a 15 mg g<sup>-1</sup> de MS; aunque no se comparó la concentración encontrada entre las procedencias, fué notorio que las plantas presentaban contenidos muy variables entre sí, dentro de una

misma procedencia. Mocchiutti (1995) encontró concentraciones de cumarinas entre 8 y 12 mg g<sup>-1</sup> de MS en otra procedencia de Costa Rica sometida a pastoreo.

Los estudios sobre la naturaleza de la variación genética de *Gliricidia sepium*, son un pilar importante para los programas de mejoramiento genético. La mayoría de los trabajos de investigación revisados, resaltan la diferencia de ecotipos a través de parámetros morfológicos, fisiológicos y químicos, que están permitiendo la selección de germoplasmas para emprender tales programas. Esta orientación de la investigación, abre la posibilidad de seleccionar parámetros directamente involucrados en la producción animal, tales como alta producción de biomasa comestible, producción de follaje en verano, alta digestibilidad, baja concentración de compuestos secundarios, etc., que contribuirán a diversificar las especies utilizadas en los sistemas de producción agrosilvopastoriles, que se adapten a manejos y medioambientes específicos.

## 5. EXPERIMENTO 1

**Determinación de compuestos secundarios (proantocianidinas y cumarinas) en cinco procedencias de *Gliricidia sepium*, en dos épocas del año.**

### 5.1 Material y métodos

#### 5.1.1 Ubicación del área de trabajo.

La investigación se realizó en la unidad de Agroforestería y Rumiantes menores y el laboratorio de Fitoquímica del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, durante los meses de Septiembre de 1994 a Junio de 1995. Este trabajo forma parte de un proyecto de investigación del CATIE y el Instituto Forestal de la Universidad de Oxford.

El sitio en que se ubicó este experimento, está localizado a 9°53'' de latitud Norte y 83°38'' de longitud Oeste; a una altitud de 602 msnm, en una zona de vida clasificada como Bosque Húmedo Premontano Tropical (Holdridge, 1978).

El clima se caracteriza por lluvias distribuidas en todo el año, con un periodo de mínima precipitación entre los meses de Enero y Abril. La precipitación media anual es de 2607.0 mm; la humedad relativa es de 87.8% y la temperatura media anual de 21.7°C (figura 1).

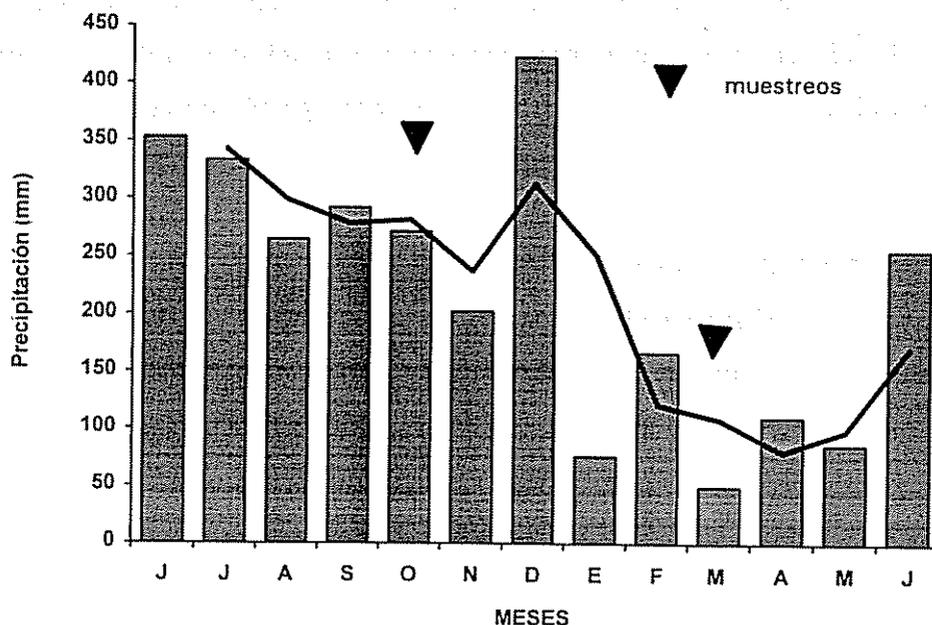


Figura 1. Precipitación mensual durante los meses de Junio de 1994 a Junio de 1995.

### 5.1.2 Material experimental.

Se utilizó una plantación de *Gliricidia sepium* formada por cinco procedencias colectadas por el Instituto Forestal de la Universidad de Oxford y establecidas en Junio de 1993 en el CATIE:

4-92 procedente de Nigeria

32-92 procedente de Colombia

124-91 procedente de Guatemala

125-91 procedente de Guatemala

126-91 procedente de Nicaragua

La primera cifra corresponde al número de procedencia y la segunda a el año en que fueron colectadas.

Estas procedencias se seleccionaron por el alto rendimiento de materia seca comestible que demostraron en pruebas anteriores. Las plantas para este ensayo se obtuvieron por medio de semillas germinadas en vivero, transplantadas al campo a una edad de 5 meses, a una distancia de 0.5x0.5 m.

La plantación está formada por cinco parcelas contiguas de 238 m<sup>2</sup>, en la que cada parcela corresponde a una procedencia. La primera poda se realizó en Mayo de 1994 (5 meses antes de iniciar el experimento) con el fin de uniformizar el crecimiento de las plantas y tener rebrotes de la misma edad fisiológica al iniciar los muestreos.

### 5.1.3 Descripción de los muestreos.

Se realizaron dos muestreos de la biomasa aérea total en dos épocas del año para todas las procedencias estudiadas. El primer muestreo se realizó en Octubre de 1994, considerándose un mes representativo de la época de mayor precipitación, a la cual se le llamará época húmeda; el segundo muestreo se realizó en Marzo de 1995, considerando que éste es un mes representativo de los meses con menos precipitación, a los que se considerará como época seca (figura 1).

Al realizar la poda de uniformización se marcaron al azar 20 plantas de las procedencias 32-92, 124-91, 125-91 y 126-91 y 10 plantas de la procedencia 4-92 para realizar los muestreos, es decir, las mismas plantas en ambas épocas.

Al realizar los muestreos, se hicieron las mediciones dasométricas y se tomaron muestras del follaje aéreo, de cada planta por separado. Las muestras fueron colocadas en bolsas previamente identificadas y llevadas al laboratorio de inmediato, donde se separó el follaje y tallo tierno (biomasa comestible) de los tallos leñosos.

De la biomasa comestible de cada planta se tomaron dos muestras homogéneas (aproximadamente 200 g), una fue secada en horno de ventilación forzada a 60°C para

determinar materia seca y otra muestra fue liofilizada y molida en criba de 1mm para los análisis de laboratorio.

#### 5.1.4 Variables de estudio.

- A) **Producción de materia seca.** Esta variable se expresó en gramos de materia seca total por planta ( $\text{g MS planta}^{-1}$ ); para obtenerla, se sumo el peso de la materia seca de hojas y tallos tiernos al peso de la materia seca de tallos.
- B) **Altura de la planta.** Esta variable se expresó en metros (m) y se obtuvo al medir la altura de cada planta desde el nivel del suelo hasta el ápice de la rama más alta.
- C) **Relación hoja:tallo.** Describe la proporción de hoja en relación a la parte leñosa de la planta; se obtuvo dividiendo el peso de hojas por el peso de tallos.
- D) **Número de ramas.** Se obtuvo por conteo de los brotes en cada planta al momento de la poda y se expresó como número de ramas por planta.
- E) **Pared celular (CPC).** Se determinó por el método de Fibra detergente neutro (Goering y Van Soest, 1970). Se expresó como porcentaje de la materia seca.
- F) **Proteína cruda (PC).** Se cuantificó por el método de micro Kjeldhal descrito por Bateman (1970). Esta variable se expresó como porcentaje de la materia seca.
- G) **Digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS).** Se determinó mediante el método de dos fases descrito por Tylley y Terry (1963) y modificado por Kass y Rodríguez (1987). Se expresó como porcentaje de la materia seca.

- H) **Proantocianidinas.** Se obtuvo por el método descrito por Rittner y Reed (1992) y se expresó en absorbancia a 550 nm por gramo de materia seca ( $ABS_{550} g^{-1} MS$ ).
- I) **Cumarina.** Se realizó por el método desarrollado por Quiroz en el CATIE (datos sin publicar) y se expresó en miligramos por gramo de materia seca ( $mg g^{-1} MS$ ).

### 5.1.5 Diseño experimental.

Se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas, con el siguiente modelo estadístico:

$$Y = \mu + P + A(P) + E + E * P + e$$

Donde:

$\mu$  = Media general

P = Efecto de procedencia

A(P) = Árboles(procedencia), error (a)

E = Efecto de época

E \* P = Interacción época \* procedencia

e = Época \* árboles (procedencia), error (b)

Se probó la normalidad y la homogeneidad de las varianzas para verificar los supuestos del modelo anterior; sin embargo, los residuos observados después del análisis de algunas variables no fueron normales y presentaron varianzas diferentes debido a la gran variabilidad que había entre las observaciones (anexo 1), por lo que se procedió a realizar las transformaciones necesarias.

Los residuos asociados producción de materia seca, pared celular, proteína cruda, DIVMS y altura, demostraron tener distribución normal con  $\mu=0$  y varianzas homogéneas, por lo cual, las observaciones se utilizaron directamente. Mientras que las variables relación hoja:tallo, número de ramas, cumarinas y proantocianidinas fueron convertidas mediante la transformación logarítmica para ser consideradas en el modelo (anexo 2).

Se realizaron los análisis de varianzas para el modelo de parcelas divididas para cada una de las variables normales y transformadas. Posterior a esto, se realizó la comparación de medias mediante la prueba  $t$  para comparaciones múltiples (dms) y la prueba de Tukey (Steel y Torrie, 1985). Se corrió un análisis de correlación múltiple para detectar que variables y en que grado se correlacionarán (SAS, 1989a).

Se realizaron análisis de conglomerados para identificar grupos genéticos homogéneos con las plantas de las cinco procedencias evaluadas, utilizando el método Ward (procedimiento Cluster del SAS, 1989a). En el procedimiento se incluyó a todas las variables y se aplicó a los datos de las épocas húmeda y seca por separado, para evitar agrupaciones erróneas, debido a la interacción de época por procedencia observada en la mayoría de las variables en los análisis de varianza. A la vez, se aplicó un análisis de varianza y una prueba de medias de Tukey para determinar cuales variables influyeron más fuertemente en la separación de los grupos formados.

Se utilizó el procedimiento Candisc (SAS, 1989a), con el objeto de encontrar las posibles diferencias entre las procedencias y las características que las diferencian. El primer análisis discriminante canónico se aplicó a todas las variables determinadas en este experimento (dasométricas, químicas y DIVMS); el segundo análisis se aplicó únicamente a las variables que indican calidad nutricional del follaje (químicas y DIVMS).

## 5.2 Resultados y discusión.

### 5.2.1 Características dasométricas.

En los cuadros 1 se observan la producción de materia seca por planta y producción de biomasa comestible; y en el cuadro 2, la relación hoja:tallo, altura de planta y número de ramas para las procedencias evaluadas. Estas variables fueron diferentes entre las procedencias y entre las épocas ( $p < 0,01$ ), sin embargo, se observó una interacción altamente significativa de procedencias por época (anexos 3, 4, 5, 6 y 7) por lo cual, las medias de las procedencias se compararon dentro de cada época por separado.

En el cuadro 1 se observa que la producción de materia seca fué mayor en la época húmeda que en la época seca. Esta disminución fue en proporciones muy parecidas en todas las procedencias (68 a 75%) y posiblemente se debió a efectos ambientales, principalmente la precipitación, que fué mayor en la época húmeda (figura 1); pero también pudo estar influenciada por la alta densidad de la plantación y/o por la edad de las plantas a la primera poda (1 año), ya que este factor está relacionado directamente con la producción subsecuente de las plantas bajo manejo (Robinson, 1991; Erdman *et al.*, 1993).

Como puede observarse también en el cuadro 1, en la época húmeda las procedencias 04, 124 y 125 presentaron la mayor producción y la procedencia 32 la menor ( $p < 0,01$ ).

Las procedencias en la época seca mantuvieron el mismo orden de producción y las mismas diferencias estadísticas con respecto a la época anterior ( $p < 0,01$ ), aunque fué notablemente menor que en la época húmeda. No obstante la disminución de la producción, en ambas épocas, las procedencias 4, 124 y 125 son las más productivas.

**Cuadro 1** Producción de materia seca en cinco procedencias de *Gliricidia sepium*, en dos épocas del año.

EPOCAS	PROCEDENCIAS				
	4-92	32-92	124-91	125-91	126-91
PRODUCCION DE MATERIA SECA (g planta <sup>-1</sup> )					
HUMEDA	324 ± 116 <sup>a</sup>	77 ± 73 <sup>c</sup>	274 ± 146 <sup>a</sup>	269 ± 101 <sup>a</sup>	153 ± 90 <sup>b</sup>
SECA	104 ± 56 <sup>a</sup>	20 ± 20 <sup>b</sup>	76 ± 64 <sup>ab</sup>	68 ± 49 <sup>ab</sup>	46 ± 35 <sup>ab</sup>
PRODUCCION DE BIOMASA COMESTIBLE (g planta <sup>-1</sup> )					
HUMEDA	129 ± 68 <sup>a</sup>	48 ± 47 <sup>b</sup>	150 ± 80 <sup>a</sup>	128 ± 26 <sup>a</sup>	79 ± 48 <sup>b</sup>
SECA	77 ± 40 <sup>a</sup>	15 ± 15 <sup>b</sup>	58 ± 45 <sup>ab</sup>	46 ± 32 <sup>ab</sup>	32 ± 24 <sup>b</sup>

Diferente literal entre valores de una hilera indica diferencia estadística ( $p < 0,01$ ).

La producción de materia seca encontrada en este trabajo, es comparable a la observada por Cobbina y Atta Krah (1992) cuando evaluaron diferentes procedencias de *Gliricidia sepium* a los nueve meses de edad, sin podas previas; aunque algunas procedencias excedieron el promedio mayor encontrado en este trabajo, por la diferencia en la edad de las plantas y la madurez fisiológica del follaje. Asimismo, Bray *et al.* (1993) observaron producciones promedio entre 0,240 a 0,642 kg de MS árbol<sup>-1</sup> en otras procedencias de *Gliricidia sepium* con quince meses de edad (que comprenden a la mayoría de los promedios encontrados en las procedencias de este experimento), evaluadas en condiciones similares a las de este trabajo. Adejumo (1992) reporta 0,333 kg de MS árbol<sup>-1</sup> obtenidos de una procedencia de Nigeria, con follaje a los nueve meses de madurez fisiológica, que es ligeramente superior a los promedios de este trabajo.

No obstante las similitudes y diferencias de los resultados de esta investigación con los de la literatura, es difícil compararlos debido a que se manejan diferentes edades de plantas, madurez del follaje y sobre todo densidades de siembra diferentes (Mendieta, 1989; Camacho, 1991; Liyanage *et al.*, 1991; Cobbina y Atta Krah, 1992).

La producción de biomasa comestible en todas las procedencias disminuyó en la época seca, entre un 40 y 68% (cuadro 1). Las mayores producciones de biomasa fueron para las

procedencias 4, 124 y 125, y las más bajas para las procedencias 32 y 126 en ambas épocas ( $p < 0,01$ ).

La producción de biomasa comestible observada en algunas procedencias de este trabajo es similar a la encontrada por Liyanage *et al.* (1991), estos autores reportan de 130 a 274 g de MS planta<sup>-1</sup> de biomasa comestible, resultado de la evaluación de trece procedencias de *Gliricidia sepium*, en las cuales realizaron podas cada tres meses a plantas con un año de edad, pero establecidas a una densidad de plantación menor. Flores (1994), reporta una producción de biomasa comestible de 170 g planta<sup>-1</sup>, que es un poco superior a lo encontrado en este trabajo, sin embargo, esto se debe a que las plantas en su estudio tenían mayor edad.

En ambas épocas las diferencias en producción de biomasa comestible entre las procedencias son considerables y son las mismas las que conservan las mayores producciones en ambas épocas. Puede decirse que las procedencias 4, 124 y 125, que se caracterizan por una mayor producción de materia seca total, y menor relación hoja:tallo, son superiores a aquellas cuya producción es menor y su relación hoja:tallo es mayor (cuadro 2).

Las relaciones hoja:tallo encontradas fueron mayores en la época seca en todas las procedencias (cuadro 2). La magnitud de este aumento varió de 47 a 72% sobre la época anterior, sin embargo, a pesar de la alta relación hoja:tallo, el tamaño de las plantas impidió que las producciones de materia seca fueran mayores o igual a los de la época húmeda.

En la época húmeda, las medias de la relación hoja:tallo de las procedencias de *Gliricidia sepium*, variaron en un rango de 1,08, siendo la mayor relación 1,92 para la procedencia 32 y la menor de 0,84 para las procedencias 125 y 4 ( $p < 0,01$ ).

En la época seca, las medias de relación hoja:tallo variaron en un rango de 1,77; las relaciones encontradas en general son mayores que en la época anterior. En esta época la

relación mas alta fué de 4,3 para la procedencia 124 y las mas bajas 2,6 y 2,8 para las procedencias 125 y 126 (cuadro 2).

Liyanage *et al.* (1991) encontraron relaciones hoja:tallo entre 1,22 y 2,16 en plantas de *Gliricidia sepium* más jóvenes, que son mayores a los encontrados en este trabajo en la época húmeda, pero a su vez, son menores que los encontrados en la época seca. Las relaciones hoja:tallo observadas en esta investigación en la época húmeda, son similares a las encontradas por Bray *et al.* (1993) al evaluar procedencias diferentes a éstas pero con la misma edad de rebrote.

**Cuadro 2. Variables dasométricas medidas en cinco procedencias de *Gliricidia sepium*, en dos épocas del año.**

PROCEDENCIAS					
EPOCAS	4-92	32-92	124-91	125-91	126-91
RELACION HOJA:TALLO					
HUMEDA	0,84±0,3 <sup>c</sup>	1,92±0,9 <sup>a</sup>	1,22±0,4 <sup>b</sup>	0,84±0,2 <sup>c</sup>	1,14±0,4 <sup>bc</sup>
SECA	3,08±0,5 <sup>ab</sup>	3,63±1,6 <sup>ab</sup>	4,3±1,9 <sup>a</sup>	2,6±0,9 <sup>b</sup>	2,8±0,9 <sup>b</sup>
ALTURA DE PLANTA (m)					
HUMEDA	2,2±0,3 <sup>b</sup>	1,0±0,3 <sup>e</sup>	1,9±0,3 <sup>c</sup>	2,6±0,3 <sup>a</sup>	1,7±0,4 <sup>d</sup>
SECA	1,0±0,1 <sup>a</sup>	0,5±0,1 <sup>c</sup>	0,8±0,3 <sup>ab</sup>	0,9±0,2 <sup>a</sup>	0,7±0,1 <sup>b</sup>
NÚMERO DE RAMAS POR PLANTA					
HUMEDA	5,5±2,2 <sup>ab</sup>	5,4±2,2 <sup>ab</sup>	4,9±1,9 <sup>ab</sup>	3,9±1,7 <sup>b</sup>	5,9±2,9 <sup>a</sup>
SECA	8,6±2,8 <sup>ab</sup>	9,1±2,6 <sup>ab</sup>	13,1±5,9 <sup>a</sup>	6,8±2,4 <sup>b</sup>	8,5±2,4 <sup>b</sup>

Diferente literal entre valores de una hilera indica diferencia estadística ( $p < 0,01$ ).

A través de la relación hoja:tallo, las procedencias evaluadas en este trabajo demostraron capacidad diferente para producir biomasa comestible y respuesta al medio ambiente en diferentes épocas del año.

Según los resultados, las procedencias 32 y 124 tienen mayor capacidad para mantener una relación hoja:tallo alta a través del tiempo, lo que significa que su capacidad de producción de biomasa comestible es menos afectada por la época que las demás procedencias.

La relación hoja:tallo presentó una correlación alta y negativa con la altura de planta y positiva con el número de ramas ( $r = -0,72$  y  $r = 0,55$ , respectivamente); las procedencias con una relación hoja:tallo mayor tenderán a ser más bajas y más ramificadas, como fué el caso de las procedencias 4, 32 y posiblemente la procedencia 124 (cuadro 2). La respuesta de estas procedencias puede estar relacionada a una menor capacidad para soportar condiciones de stress hídrico.

Las mayores alturas de planta en todas las procedencias se observaron en la época húmeda, tendiendo a disminuir hacia la época seca entre un 53 y 63% ( $p < 0,01$ , cuadro 2). En esta época, la altura de las plantas de las cinco procedencias varió en un rango de 1.6m, siendo la procedencia 125 la que alcanzó la mayor altura (2,6m) y la 32 la menor (1,0m).

En la época seca el rango de variación entre las medias de altura fué de 0,5 m, siendo las procedencias 4, 125 y 124 las de mayor altura (1,0 a 0,8 m) y la 32 la más baja (cuadro 2). Las procedencias 4 y 124 en esta época igualaron la altura de la 125, que había sido la más alta en la época húmeda.

Las plantas de las procedencias 4, 124 y 125 presentaron mayor altura en ambas épocas; demostrando una capacidad de crecimiento superior a las demás procedencias.

En trabajos previos como el de Camacho (1991) se reportan alturas de plantas similares a las de este trabajo (278-208 cm) en mediciones al año de edad. Asimismo, Cobbina y Atta Krah (1992) reportan 225 cm como promedio de altura de varias procedencias y Liyanage *et al.* (1991) observaron promedios que también son comparable a los obtenidos en este

trabajo, aunque solo en la época húmeda, porque en la época seca todos los promedios de altura observados en este trabajo son menores a los reportados en la literatura.

En el cuadro 2 se muestra la tendencia seguida por la variable número de ramas para las cinco procedencias en las dos épocas del año. En todas las procedencias, el número de ramas fué mayor en la época seca.

En la época húmeda las medias de número de ramas variaron en un rango de 1,6. La procedencia 126 presentó el número mayor (5,9 ramas) seguida por la 124, 32 y 4, mientras que el número menor lo presentó la procedencia 125 (3,9 ramas,  $p < 0,01$ ).

El rango de variación de las medias en la época seca fué mayor que en la anterior (6,3 ramas), el número de ramas aumentó y las procedencias no presentaron el mismo orden que en la época húmeda; en esta ocasión la 124 mostró el mayor número y la 126 y 125 el menor ( $p < 0,01$ ).

Las procedencias 4, 32 y 124, mantuvieron el mayor número de ramas en las dos épocas, a diferencia de la procedencia 125 que presentó el número menor (cuadro 2).

El menor número de ramas observado en la época húmeda, puede estar relacionado a que la mayor disposición de humedad propicia un crecimiento extremadamente rápido de algunas ramas principales, impidiendo la formación o desarrollo de otras o a diferente capacidad de las procedencias para disponer sus reservas de carbohidratos a la formación de rebrotes, después de las podas. Con respecto a ésto, puede citarse el trabajo de Ella *et al.* (1991) en el que encontraron diferente número de ramas a diferentes edades de poda, de una misma procedencia de *Gliricidia sepium* evaluada en Indonesia; los valores encontrados por ellos fueron mas altos que en este trabajo por lo que se sugiere que es una procedencia de mayor ramificación, pero a su vez indican que el número de ramas de una procedencia también está sujeto al manejo.

Liyanage *et al.* (1991) observaron números de ramas por planta similares a los de este trabajo (2 a 5), en una evaluación de trece procedencias de *Gliricidia sepium* en Sri Lanka; también Mendieta (1989) al estudiar algunas procedencias de *Gliricidia sepium* encontró números de ramas parecidos (3 a 4 ramas) a los encontrados en esta época en este trabajo (3,9 a 5,9 ramas), pero inferiores a los de la época seca (6,8 a 13,1 ramas).

Cobbina y Atta Krah (1992) encontraron procedencias con ramificación profusa y tomaron esta variable como característica de las procedencias más productivas; en cambio en este trabajo sucedió lo contrario, posiblemente por la mayor altura que alcanzaron las procedencias que ellos evaluaron.

### 5.2.2 Composición química.

Los resultados de los análisis de proteína cruda, así como el de pared celular y DIVMS, se encuentran en el cuadro 3; los valores encontrados variaron por efecto de las procedencias, de las épocas y presentaron también efecto de la interacción ( $p < 0,01$ ) de procedencia por época (anexos 8, 9 y 10).

En la época húmeda, la variación del porcentaje de proteína cruda entre las procedencias fué de 3,8%, siendo las procedencias 124, 125 y 4 las que presentaron los porcentajes más altos y la procedencia 32 el porcentaje más bajo ( $p < 0,01$ , cuadro 3). Las procedencias que presentaron los porcentajes mayores de proteína cruda también presentan las mayores producciones de materia seca (cuadro 1), indicando que la mayor producción no es detrimental para el contenido de proteína cruda en esta época.

En la época seca, el porcentaje de proteína cruda aumentó entre 0,4 y 23. Los porcentajes de proteína cruda de las procedencias variaron en un rango de 2,3%; las procedencias 32 y

125 presentaron los porcentajes más altos y los porcentajes más bajos correspondieron a las procedencias 124, 126 y 4 ( $p < 0,01$ , cuadro 3).

Las procedencias más consistentes en sus porcentajes de proteína a través de las épocas fueron la 4, 124 y 125, mientras que la 32 y 126 mostraron una aparente capacidad para aumentar su contenido de proteína cruda en la estación menos húmeda.

**Cuadro 3. Composición química del follaje de cinco procedencias de *Gliricidia sepium*, en dos épocas del año.**

EPOCAS	PROCEDENCIAS				
	4-92	32-92	124-91	125-91	126-91
PROTEÍNA CRUDA (%)					
HUMEDA	23,3 ± 1 <sup>a</sup>	19,6 ± 2 <sup>c</sup>	23,4 ± 1 <sup>a</sup>	23,3 ± 2 <sup>a</sup>	20,7 ± 1 <sup>b</sup>
SECA	23,4 ± 1 <sup>b</sup>	25,6 ± 2 <sup>a</sup>	24,3 ± 1 <sup>b</sup>	24,8 ± 1 <sup>ab</sup>	23,5 ± 1 <sup>b</sup>
PARED CELULAR (%)					
HÚMEDA	45,9 ± 3 <sup>ab</sup>	45,1 ± 2 <sup>ab</sup>	46,1 ± 3 <sup>a</sup>	43,3 ± 4 <sup>b</sup>	46,9 ± 3 <sup>a</sup>
SECA	40,0 ± 4 <sup>b</sup>	38,2 ± 4 <sup>b</sup>	44,0 ± 2 <sup>a</sup>	38,5 ± 4 <sup>b</sup>	42,6 ± 4 <sup>ab</sup>
DIVMS (%)					
HÚMEDA	62,6 ± 2 <sup>a</sup>	65,6 ± 4 <sup>a</sup>	59,2 ± 4 <sup>b</sup>	65,2 ± 2 <sup>a</sup>	63,7 ± 3 <sup>a</sup>
SECA	68,6 ± 3 <sup>a</sup>	66,7 ± 4 <sup>ab</sup>	62,2 ± 3 <sup>c</sup>	68,3 ± 3 <sup>a</sup>	65,0 ± 4 <sup>bc</sup>

Diferente literal entre valores de una hilera indica diferencia estadística ( $p < 0,01$ ).

En general, los contenidos de proteína cruda son inferiores a los reportados por Camero (1991), Ruíz (1992) y Urriola (1994), debido a que en sus investigaciones, ellos utilizaron frecuencias de poda diferentes a la utilizada en este trabajo; sin embargo, Mendieta (1989) y Pereira *et al.* (sin publicar) reportan valores similares a los obtenidos en este trabajo en otras procedencias, aun cuando manejaron frecuencias de poda de tres meses.

Como se observa en el cuadro 3, en la época húmeda, el rango de variación de las medias de pared celular fue de 3.6%; las procedencias 126 y 124 presentaron los mayores contenidos de pared celular y la procedencia 125 presentó el menor contenido ( $p < 0,01$ ).

En la época seca, la variación entre las medias de las procedencias fué de 5.8%; las procedencias 124 y 126 siguieron situándose como las de mayores contenidos de pared celular, los porcentajes más bajos fueron para las procedencias 4, 32 y 125, que no difirieron significativamente entre sí ( $p < 0,01$ , cuadro 3).

Aunque todas las procedencias disminuyeron sus porcentajes de pared celular en la época seca, las procedencias 124 y 126 fueron las menos variables y las que presentaron los contenidos mayores de pared celular; mientras que, la procedencia 125 mantuvo los porcentajes menores en ambas épocas.

Según Van Soest (1994), las plantas de una misma especie pueden desarrollar sus propias interrelaciones con los factores del medio ambiente y presentar características diferentes a su propia especie al ser manejadas en otro ambiente, como pudo haber sucedido con las procedencias estudiadas aquí.

En la época seca se presentó un crecimiento menor en las plantas ocasionado por la disminución de la precipitación (figura 1), que tuvo un efecto positivo sobre el contenido de pared celular (cuadro 3); esta disminución es poco usual porque en la mayoría de los forrajes, los constituyentes de la pared celular aumentan conforme avanza la estación seca, o el estrés hídrico aumenta (Adejumo, 1993; Van Soest, 1994); sin embargo, en otros trabajos, como el de Hernández *et al.* (1994), se ha observado el mismo fenómeno, la calidad del follaje aumenta en la estación seca. Wilson (1984), deduce que la madurez de los tejidos de las plantas no es regulada necesariamente por la sequía, las hojas retardan su crecimiento durante el estrés hídrico, por lo cual, el follaje presenta mayor calidad nutricional y menor cantidad de componentes estructurales en el follaje.

Por otro lado, Camero (1991) encontró porcentajes de pared celular en una procedencia de Turrialba, que son superiores (53%) a los de este trabajo en ambas épocas. Ruíz (1992) también reporta porcentajes de pared celular superiores a éstos (53 a 59%), en 16

procedencias y familias de *Gliricidia sepium*. Este mismo autor, reporta que esta variable no difirió entre procedencias y familias, pero sí difirió entre plantas. En cambio, en esta investigación, sí se observaron diferencias entre procedencias, mientras que entre plantas la variación fue mínima en comparación con otras variables (anexo 1).

En la época húmeda la variación entre las procedencias para la DIVMS fue de 6.3%. Las procedencias 32, 125, 126 y 4, presentaron los porcentajes de DIVMS más altos, mientras que la procedencia 124 presentó el porcentaje mas bajo ( $P < 0,01$ , cuadro 3).

En la época seca, el rango de variación del porcentaje de DIVMS entre las procedencias fue de 6,4%, y debido al menor contenido de pared celular en esta época, hubo un aumentó en la DIVMS en todas las procedencias (2 a 9%); como se explicó anteriormente, ésto puede estar relacionado al retardo en el crecimiento de los rebrotes, lo cual retardo la acumulación de componentes estructurales que limitan la digestibilidad del follaje.

La mayor DIVMS la presentaron las procedencias 4, 125 y 32 que fueron superiores a las 126 y 124 ( $p < 0,01$ ).

Las procedencias 32 y 125 presentaron valores de DIVMS más consistentes en las dos épocas. Por su parte, la procedencia 4 mostró mayor capacidad para mejorar el porcentaje de DIVMS en la época de mayor estres hídrico (seca). Las procedencias 4, 32 y 125, se destacaron de las demás por sus porcentajes más altos de DIVMS en ambas épocas del año. Por su parte, las procedencias 124 y 126 se vieron más afectadas por el alto contenido de pared celular.

Mendieta (1989) encontró porcentajes de DIVMS en la biomasa comestible de *Gliricidia sepium* similares a los de esta investigación (60,1-66,0%) en procedencias manejadas con intervalos de poda más cortos, en el trópico húmedo.

El porcentaje de DIVMS encontrado en esta investigación es superior a lo que reportan Camero (1991) y Ruíz (1992) para otras procedencias estudiadas en el trópico húmedo; Ruíz (1992), no encontró diferencias entre las procedencias que evaluó para esta variable, como sucedió en este trabajo. En cambio, Bray *et al.* (1993) reportan porcentajes de DIVMS de 75 a 80% en plantas de *Gliricidia sepium* manejadas con la misma frecuencia de podas de este trabajo, encontrando diferencias significativas entre procedencias.

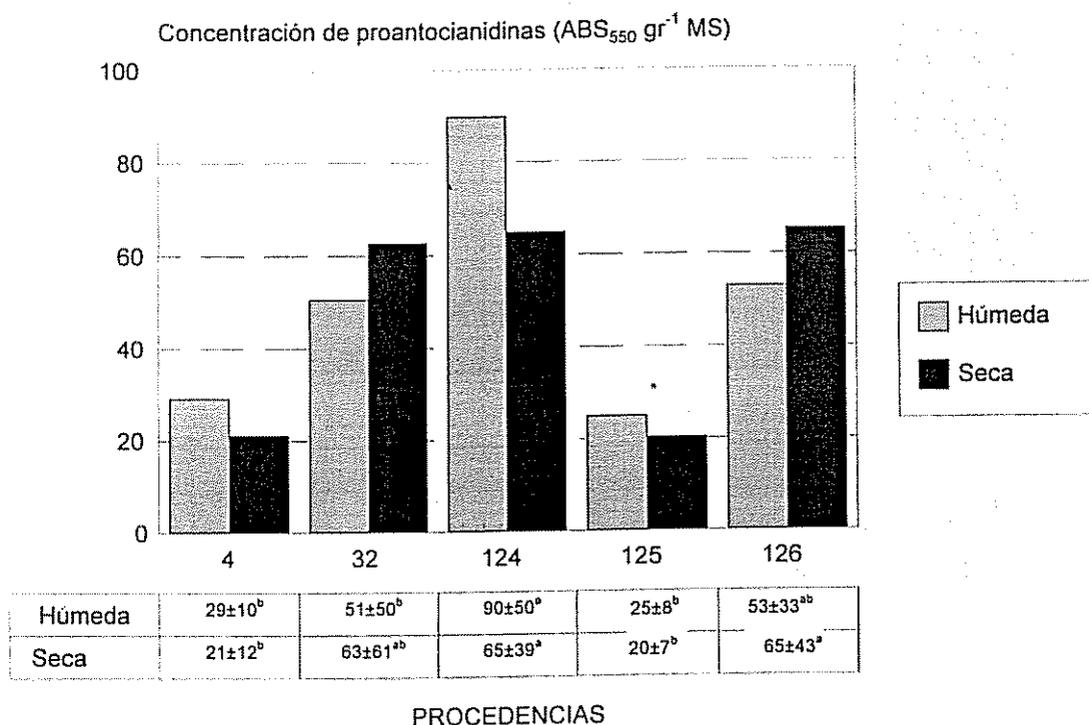
A pesar de las diferencias estadísticas encontradas entre las procedencias en cuanto a sus características nutricionales, todas ellas poseen valores de proteína cruda y DIVMS suficientemente altos como para ser utilizadas como forraje. Los valores observados en el cuadro 3 son comparables, y en cierta forma superiores a los reportados por Camero (1992) para la especie *Erythrina poeppigiana*. Asimismo, presentan porcentajes de proteína cruda superiores y DIVMS similares a los reportados por Ibrahim (1994), para la leguminosa *Arachis pintoj*, la cual también es considerada como una de las especies con excelente potencial forrajero en el trópico.

### 5.2.3 Compuestos secundarios..

Los análisis de varianza para las concentraciones de proantocianidinas y cumarinas en la materia seca de las cinco procedencias de *Gliricidia sepium*, se encuentran en los anexos 11 y 12. La concentración de proantocianidinas fué afectada significativamente por la procedencia, la época y la interacción entre época y procedencia ( $p < 0,01$ ); mientras que la concentración de cumarinas, únicamente varió por efecto de procedencias ( $p < 0,01$ ).

Como se observa en la figura 2, en la época húmeda, la concentración de proantocianidinas entre las procedencias varió en un rango de  $64,8 \text{ ABS}_{550} \text{ g}^{-1} \text{ MS}$ . Las concentraciones más altas las presentaron las procedencias 124, 126 y 32, mientras que las procedencias 4 y 125 presentaron las más bajas ( $p < 0,01$ ).

En la época seca, el contenido de proantocianidinas disminuyó en la mayoría de las procedencias. El rango de variación en la concentración de proantocianidinas entre las procedencias fué de 45  $\text{ABS}_{550} \text{ g}^{-1} \text{ MS}$ , siendo las procedencias 126, 124 y 32 las que presentaron la mayor concentración, al igual que en la época anterior, mientras que las procedencias 4 y 125 siguieron siendo las de menor concentración ( $p < 0,01$ , figura 2).



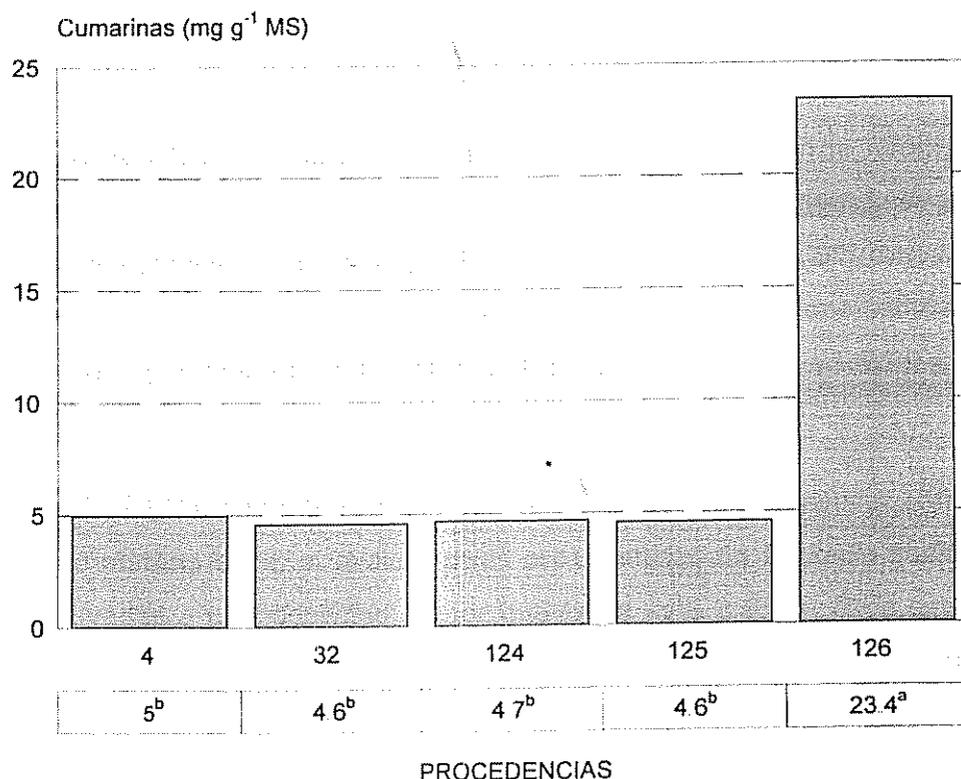
Diferente literal en la misma hilera indica diferencia estadística ( $p < 0,01$ ).

**Figura 2.** Concentración de proantocianidinas en el follaje de cinco procedencias de *Gliricidia sepium* en dos épocas del año.

Urriola (1994), encontró concentraciones de proantocianidinas similares a las de este trabajo (27,6 a 83,5  $\text{ABS}_{550} \text{ g}^{-1} \text{ MS}$ ) al evaluar otras procedencias de *Gliricidia sepium*, en el trópico húmedo de Costa Rica. También observó diferencias en las concentraciones de

esta variable entre procedencias; sin embargo, no encontró mayor variación entre los individuos de las procedencias como sucedió en este trabajo.

La variación en la concentración de cumarinas entre las procedencias fué de 19 mg g<sup>-1</sup> MS; la procedencia 126 mostró el contenido más alto, mientras que las procedencias 4, 32, 124 y 125 tuvieron las concentraciones más bajas e iguales entre sí ( $p < 0,01$ , figura 3).



Diferente literal en la misma hilera indica diferencia estadística ( $P < 0,05$ ).

**Figura 3.** Concentración de cumarinas en el follaje de cinco procedencias de *Gliricidia sepium*.

El contenido de cumarinas en la procedencia 126 es muy superior al de las otras procedencias evaluadas en este trabajo, siendo superior también a las concentraciones reportadas por Urriola (1994) y Mochiutti (1995) quienes evaluaron otras procedencias de

*Gliricidia sepium* en el trópico húmedo; sin embargo, los valores que reportan son similares a las otras procedencias de este estudio.

#### 5.2.4 Correlación entre las variables evaluadas.

En el cuadro 4, se observan las correlaciones significativas que se dieron entre las variables medidas.

La producción de materia seca se correlacionó positivamente con la altura de las plantas ( $r=0,79$ ); esta correlación puede ser importante, si se desea identificar procedencias o individuos para condiciones en las que la altura sea primordial. Sin embargo, puede ser detrimental para la producción de biomasa comestible, debido a que también se encontró una correlación negativa importante entre la altura y la relación hoja:tallo ( $r=-0,72$ ).

Liyanage *et al.* (1991), encontraron un coeficiente de correlación similar entre la altura y la producción de materia seca, al evaluar otras procedencias de *Gliricidia sepium* con un año de edad, cultivadas a una densidad menor que la de este trabajo; ellos sugieren que esta interrelación también puede ser muy útil para predecir la producción de las plantas mediante la altura.

Desde el punto de vista forrajero, la correlación más importante que deben analizarse entre las variables dasométricas, es la observada entre producción de materia seca y relación hoja:tallo ( $r=-0,54$ ), aunque la relación es negativa, pueden encontrarse genotipos de *Gliricidia sepium* que se vean menos afectadas por esta relación.

**Cuadro 4. Matriz de correlaciones entre las variables medidas en cinco procedencias de *Gliricidia sepium*.**

VARIABLES	Produccion materia seca	Relacion Hoja:tallo	Altura de planta	Número ramas	Pared celular	DIVMS	Proteína cruda	proantocianidinas
Relación Hoja:tallo	-0,54**							
Altura de planta	0,79**	-0,72**						
Número ramas	-0,21**	0,55**	-0,50**					
Pared celular	-0,30**	-0,30**	-0,36**	-0,22**				
DIVMS	-0,23**	0,05	-0,20**	0,00	-0,67**			
Proteína	-0,08	0,28**	-0,17*	0,22**	-0,61**	0,33**		
Proantocianidinas	0,00	0,28**	-0,14*	0,20**	0,24**	-0,55**	-0,16*	
Cumarina	-0,12	-0,07	-0,06	-0,05	0,12	0,06	-0,13	0,02

Se encontró una correlación inversamente proporcional entre los porcentajes de pared celular y proteína cruda y DIVMS ( $r=-0,61$  y  $r=-0,67$ , respectivamente), siendo las procedencias 124 y 126 las que se vieron más afectadas por esta relación.

La concentración de proantocianidinas mostró correlaciones importantes con las variables químicas evaluadas en este trabajo. La correlación más alta la presentó con el porcentaje de DIVMS ( $r=-0,55$ ), siguiéndole la correlación con el porcentaje de pared celular ( $r=0,24$ ) y proteína cruda ( $r=-0,16$ ).

Como es conocido, un porcentaje importante de la proteína cruda de las especies forrajeras se encuentra contenida en la pared celular que es la parte menos digestible de la materia seca. Según Urriola (1994), hasta un 30% de la proteína de *Gliricidia sepium* puede estar ligada a la pared celular; Camero (1991), encontró un 47% del N total contenido en esta fracción de la materia seca de *Gliricidia sepium*. El enlace entre estos dos constituyentes de la materia seca, es un complejo difícil de romperse en el ambiente ruminal, bajo condiciones anaeróbicas.

Según Kumar y Vaithyanathan (1990) y Tanner *et al.* (1994) en este complejo de interrelaciones entre las variables de composición química, las proantocianidinas juegan un papel importante.

Las proantocianidinas, se unen a las fracciones de la fibra y a las proteínas, formando complejos que aumentan el contenido de pared celular (Rittner y Reed, 1992). De tal forma que la colonización de las fracciones de forraje, por las bacterias del rumen, es más lenta (Barry y Duncan, 1984). Reed *et al.* (1982) encontraron coeficientes de correlación altos ( $r=0,90$ ) entre las proantocianidinas y la solubilización de la proteína cruda ligada a la pared celular de *Manihot sculenta*.

La variable concentración de cumarinas no se correlacionó con ninguna otra variable de las evaluadas en esta investigación; asimismo, Urriola (1994), en su estudio tampoco encontró correlación alguna entre esta variable y DIVMS, proteína cruda o pared celular, cuando comparó procedencias de *Gliricidia sepium* en un ambiente similar a este trabajo.

#### **5.2.5 Identificación de grupos genéticos similares y características que los identifican.**

Las procedencias de *Gliricidia sepium* incluidas en este estudio representan un material genético variable. En el anexo 1 se observa que con excepción de las variables de calidad nutritiva (pared celular, DIVMS y proteína cruda), todas ellas denotan una gran variación entre los individuos de cada procedencia. En diversos trabajos ya se ha reportado la gran variación que puede existir dentro de procedencias de esta especie, e incluso dentro de las propias familias de las procedencias (Mendieta, 1989; Ruíz, 1992; Bray *et al.*, 1993; Chamberlain y Galwey, 1993).

En la época húmeda, la agrupación de las plantas según el análisis Cluster, estuvo influenciada por todas las variables, con excepción del número de ramas (cuadro 5); sin embargo, el valor de las F en los análisis de varianza demuestra que la concentración de cumarinas, la altura y el contenido de proteína cruda son las variables que tienen mayor peso para determinar la formación de los grupos (422,6, 44,2 y 24,8, respectivamente).

**Cuadro 5. Comparación de medias de las variables que influyeron en la separación de grupos de plantas, en el análisis cluster de la época húmeda.**

VARIABLES	grupo 1	grupo 2	grupo 3	grupo 4
Prod. de materia seca (g)	287,7 <sup>a</sup>	61,53 <sup>c</sup>	151,1 <sup>b</sup>	179,3 <sup>b</sup>
Relación hoja:tallo	0,98 <sup>b</sup>	1,98 <sup>a</sup>	1,09 <sup>b</sup>	1,29 <sup>b</sup>
Altura de plantas (m)	2,21 <sup>a</sup>	0,95 <sup>c</sup>	1,66 <sup>b</sup>	1,80 <sup>b</sup>
Número de ramas	5,1 <sup>a</sup>	5,1 <sup>b</sup>	5,46 <sup>a</sup>	4,4 <sup>a</sup>
Pared celular (%)	44,3 <sup>c</sup>	45,2 <sup>bc</sup>	46,9 <sup>b</sup>	48,9 <sup>a</sup>
DIVMS (%)	63,7 <sup>a</sup>	65,3 <sup>a</sup>	64,5 <sup>a</sup>	56,3 <sup>b</sup>
Proteína (%)	23,2 <sup>a</sup>	19,5 <sup>d</sup>	20,8 <sup>c</sup>	22,0 <sup>b</sup>
Proantocianidinas (ABS/g)	39,4 <sup>b</sup>	54,4 <sup>b</sup>	53,5 <sup>b</sup>	106,2 <sup>a</sup>
Cumarina (mg/g)	4,8 <sup>b</sup>	4,4 <sup>b</sup>	31,1 <sup>a</sup>	4,7 <sup>b</sup>

Diferente literal entre valores de una hilera indica diferencia estadística ( $p < 0,01$ ).

El cuadro 6 muestra la forma en que se distribuyeron las plantas en los diferentes grupos formados por el análisis Cluster.

En la época húmeda, el grupo 1 concentró el 50% de las plantas de todas las procedencias juntas. Sin embargo, incluyó el total de las plantas de la procedencia 125 (100%) y a la mayoría de las procedencias 4 (90%) y 124 (60%); este grupo se formó con plantas con mayor altura, mayor producción de materia seca, mayor DIVMS, proteína cruda y los menores contenidos de pared celular y proantocianidinas. En el grupo 2 se concentró la mayoría de las plantas de la procedencia 32 únicamente (85%); estas presentaron la mayor relación hoja:tallo, mayor DIVMS y la menor producción de materia seca, proteína cruda y concentración de proantocianidinas. La mayoría de las plantas de la procedencia 126 se concentró en el grupo 3 (70% de las plantas), este grupo se caracterizó por su alto contenido de cumarina, alta DIVMS y baja concentración de proantocianidinas. El grupo 4 incluyó el resto de las plantas de la procedencia 124 (40% de las plantas), lo cual significa que esta procedencia se distribuye en dos grupos; este grupo 4 está caracterizado por un alto contenido de pared celular y proantocianidinas.

**Cuadro 6. Distribución de frecuencias en los grupos de plantas formados por el análisis cluster en las épocas húmeda y seca.**

PROCED	EPOCAS							
	HUMEDA				SECA			
	grupo 1	grupo 2	grupo 3	grupo 4	grupo 1	grupo 2	grupo 3	grupo 4
4-92	9	0	0	1	4	6	0	0
32-92	2	17	0	0	15	0	5	0
124-91	12	0	0	8	0	7	13	0
125-91	20	0	0	0	9	11	0	0
126-91	4	0	14	2	2	3	3	12

La agrupación de las plantas en la época seca fue similar; se formaron cuatro grupos separados por la contribución de todas las variables (cuadro 7), aunque al igual que en la época húmeda, fueron las variables concentración de cumarinas, altura, además de la DIVMS y concentración de proantocianidinas, las variables que definieron con mayor peso la formación de los grupos.

En esta época, el grupo 1 estuvo conformado por plantas de todas las procedencias con excepción de la 124; agrupó la mayoría de las plantas de la procedencia 32 (75%) y aproximadamente la mitad de las 4 y 125 (40 y 45%, respectivamente). Este grupo concentró plantas con mayor DIVMS y proteína cruda, con menor contenido de pared celular y baja concentración de cumarinas. El grupo 2 se formó con plantas de todas las procedencias con excepción de la 32, sin embargo, concentró en su mayor parte a las plantas de la procedencia 125 (55%) y una proporción alta de la 124 (35%). Este grupo se caracterizó por la mayor producción de materia seca por planta, así como de altura, DIVMS intermedia y los más bajos contenidos de proantocianidinas y cumarinas. El grupo 3 se formó con plantas de tres procedencias, agrupando la mayor parte de las plantas de la procedencia 124 (65%) y una minoría de la 32 y 126; este grupo se caracterizó por presentar un número de ramas mayor y las relaciones hoja:tallo más altas, un contenido intermedio de cumarinas y proteína cruda, así como los porcentajes de pared celular más altos. El grupo 4 se formó únicamente con plantas de la procedencia 126 (60%), agrupó

plantas con menor producción de materia seca, relación hoja:tallo y DIVMS, y con mayor concentración de pared celular, proantocianidinas y cumarinas (cuadros 6 y 7).

**Cuadro 7. Comparación de medias de las variables que influyeron en la separación de grupos de plantas en el análisis cluster de la época seca.**

VARIABLES	grupo 1	grupo 2	grupo 3	grupo 4
Producción de materia seca (g)	31,9 <sup>b</sup>	106,6 <sup>a</sup>	50,1 <sup>b</sup>	39,0 <sup>b</sup>
Relación hoja:tallo	3,2 <sup>b</sup>	2,5 <sup>b</sup>	4,8 <sup>a</sup>	2,7 <sup>b</sup>
Altura de plantas (m)	0,64 <sup>b</sup>	1,03 <sup>b</sup>	0,58 <sup>b</sup>	0,64 <sup>b</sup>
Número de ramas	8,2 <sup>b</sup>	8,7 <sup>b</sup>	12,9 <sup>a</sup>	7,4 <sup>b</sup>
Pared celular (%)	37,0 <sup>b</sup>	41,5 <sup>a</sup>	43,0 <sup>a</sup>	43,0 <sup>b</sup>
DIVMS (%)	69,1 <sup>a</sup>	66,5 <sup>b</sup>	65,1 <sup>b</sup>	61,6 <sup>c</sup>
Proteína (%)	25,4 <sup>a</sup>	23,8 <sup>b</sup>	24,0 <sup>b</sup>	23,5 <sup>b</sup>
Proantocianidinas (ABS/g)	36,2 <sup>bc</sup>	26,7 <sup>c</sup>	95,9 <sup>a</sup>	52,0 <sup>b</sup>
Cumarina (mg-g)	5,8 <sup>b</sup>	4,9 <sup>b</sup>	4,6 <sup>b</sup>	33,5 <sup>a</sup>

Diferente literal entre valores de una hilera indica diferencia estadística ( $p < 0,01$ ).

En ambas épocas, son las plantas de los grupos 1, las que poseen las mejores características nutricionales como para ser seleccionadas con fines forrajeros; sin embargo, hubieron plantas que no se agruparon con aquellas con las que compartieron un grupo en la época anterior; esto significa que un gran número de plantas no tienen una respuesta uniforme al medio ambiente, es decir, en una procedencia puede haber plantas que en una época responden de una forma diferente a la siguiente y otras que responden de la misma forma, aun cuando se espera que la respuesta general de los individuos sea uniforme.

El análisis discriminante canónico (procedimiento Candisc del SAS, 1989a) no mostró la misma tendencia en las dos épocas estudiadas. En el cuadro 8, se observan las correlaciones entre las variables canónicas del análisis discriminante y las variables originales de este trabajo, para la época húmeda.

**Cuadro 8. Coeficientes de correlación entre las variables canónicas y las variables originales en el primer análisis canónico, en la época húmeda.**

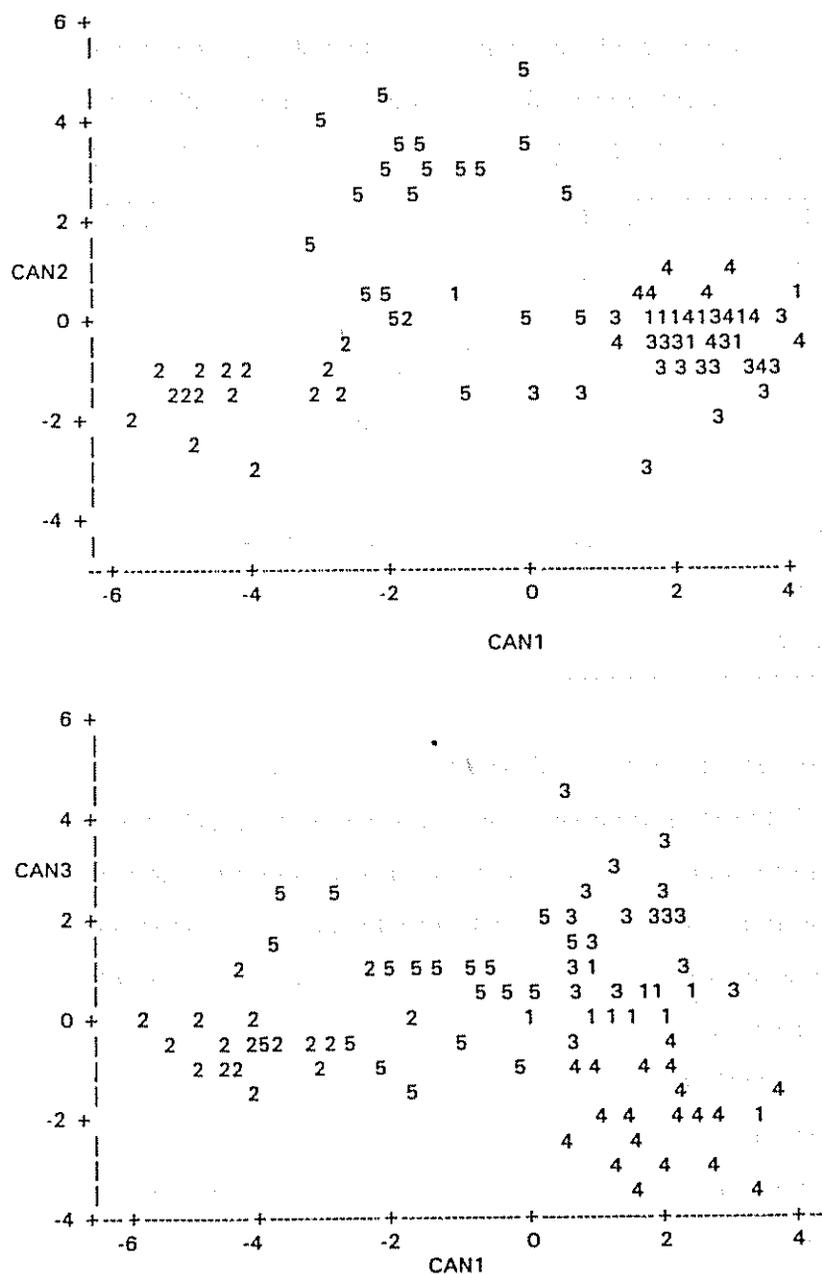
VARIABLES	CAN1	CAN2	CAN3
Prod. de materia seca	0,68**	-0,05	0,03
Relación hoja:tallo	-0,60**	-0,36**	0,14
Altura de planta	0,89**	0,18	-0,36
Número de ramas	-0,24*	0,12	0,21
Porcentaje de pared celular	-0,11	0,20	0,42**
Porcentaje de DIVMS	-0,30**	0,14	-0,65**
Porcentaje de proteína	0,81**	-0,13	0,03
Conc. de proantocianidinas	-0,06	-0,19	0,61**
Concentración de cumarina	-0,22**	0,89**	0,22

En la época húmeda la primera variable canónica, CAN1, es una dimensión bipolar que contrapone el contenido de proteína y la producción de materia seca a la DIVMS, relación hoja:tallo y cumarinas, mientras que la variable CAN2 es una dimensión dominada por las cumarinas que aumentará conforme disminuye la relación hoja:tallo. La variable CAN3 contrapone el porcentaje de pared celular y proantocianidinas a la DIVMS.

En la figura 4, se observa que las procedencias 4, 124 y 125 tienen los valores más altos de CAN1, significando que son las más productivas y con mayor contenido de proteína pero con menor DIVMS, sucediendo lo contrario con la procedencia 32.

La procedencia 126 tiene el valor más alto de la variable CAN2, es la que posee la mayor cantidad de cumarinas cuando la relación hoja:tallo disminuye (figura 4).

Las procedencias 124 y 126, con los valores más altos de CAN3, son las que tienen valores más altos de proantocianidinas, pared celular y baja DIVMS, siendo la procedencia 125 la que permaneció con los valores más bajos de CAN3; mientras que las demás procedencias se encuentran en un punto similar.



1 = 4-92, 2 = 32-92, 3 = 124-91, 4 = 125-91, 5 = 126-91.

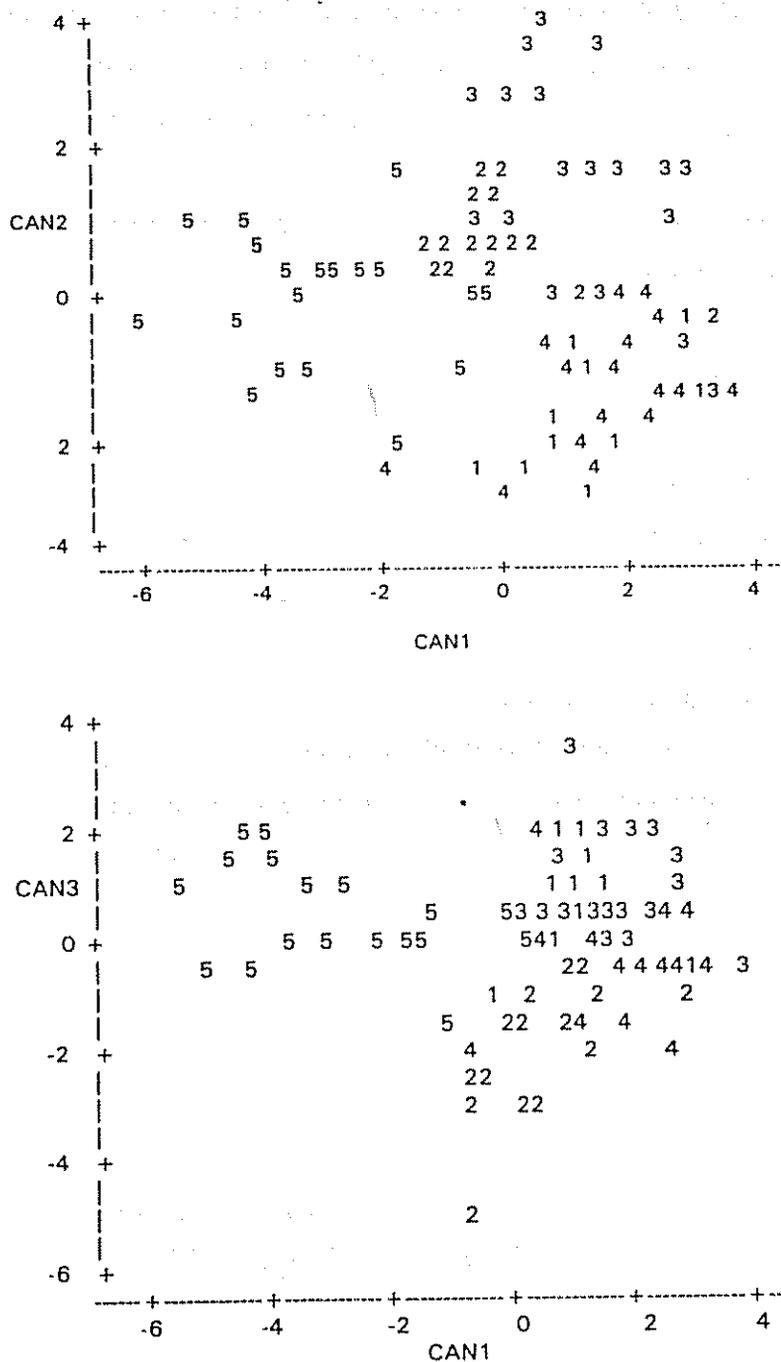
Figura 4. Representación de plantas de diferentes procedencias de *Gliricidia sepium* en los planos formados por las primeras variables canónicas, en la época húmeda (primer análisis canónico).

La matriz de correlaciones entre las variables canónicas y las variables originales para la época seca, se encuentran en el cuadro 9.

**Cuadro 9. Coeficientes de correlación entre las variables canónicas y las variables originales, en la época seca (primer análisis canónico).**

VARIABLES	CAN1	CAN2	CAN3
Producción materia seca	0,30**	-0,19	0,47**
Relación hoja:tallo	0,24*	0,53**	0,05
Altura de planta	0,35**	-0,55**	0,51**
Número de ramas	0,17	0,63**	0,20
Porcentaje pared celular	-0,14	0,43**	0,69**
Porcentaje de DIVMS	0,06	-0,68**	-0,34**
Porcentaje de proteína	0,27*	0,13	-0,60**
Conc. proantocianidinas	0,27*	0,56**	-0,10
Conc. de cumarina	-0,82**	-0,01	0,26*

La variable CAN1 es una dimensión dominada por las cumarinas como sucedió con el CAN2 de la época húmeda, a medida que esta disminuye, también disminuye casi imperceptiblemente la concentración de proantocianidinas y aumentan la altura y la producción de materia seca total por planta. Las procedencias con valores bajos de cumarina tendrán valores mas altos de la variable CAN1. En la variable CAN2 se contraponen la DIVMS y la altura a la relación hoja:tallo y contenido de proantocianidinas, por lo que, procedencias con estas características tendrán valores altos de esta variable. La dimensión de la variable CAN3 está dominada por las plantas con bajo porcentaje de DIVMS y porcentaje de proteína cruda, y alto contenido de pared celular y producción de materia seca. En esta época el valor más alto de CAN1 lo poseen la mayoría de las procedencias y la 126 el valor más bajo, presentando un mayor contenido de cumarinas; la procedencia 124 se caracteriza por los valores más altos de CAN2, es decir, por una altura y DIVMS menor en contraposición con una mayor relación hoja:tallo y contenido de proantocianidinas; la procedencia 32 tiene los valores mas bajos de CAN3, siendo de mayor contenido de proteína y menor contenido de pared celular (figura 5).



1 = 4-92, 2 = 32-92, 3 = 124-91, 4 = 125-91, 5 = 126-91.

Figura 5. Representación de plantas de diferentes procedencias de *Gliricidia sepium* en los planos formados por las primeras variables canónicas, en la época seca (primer análisis canónico).

Según los resultados del análisis canónico, las procedencias 32 y 125 tuvieron un comportamiento mejor en las dos épocas, mantuvieron bajos porcentajes de cumarinas, proantocianidinas y pared celular, porcentajes aceptables de DIVMS, proteína y producción de materia seca por planta. En cambio, la procedencia 126 y en menor grado la 124, se vieron menos favorecidas en ambas épocas.

Estas observaciones refuerzan los resultados obtenidos mediante el análisis Cluster, donde las procedencias que se comportaron más homogéneamente también fueron la 32 y la 125.

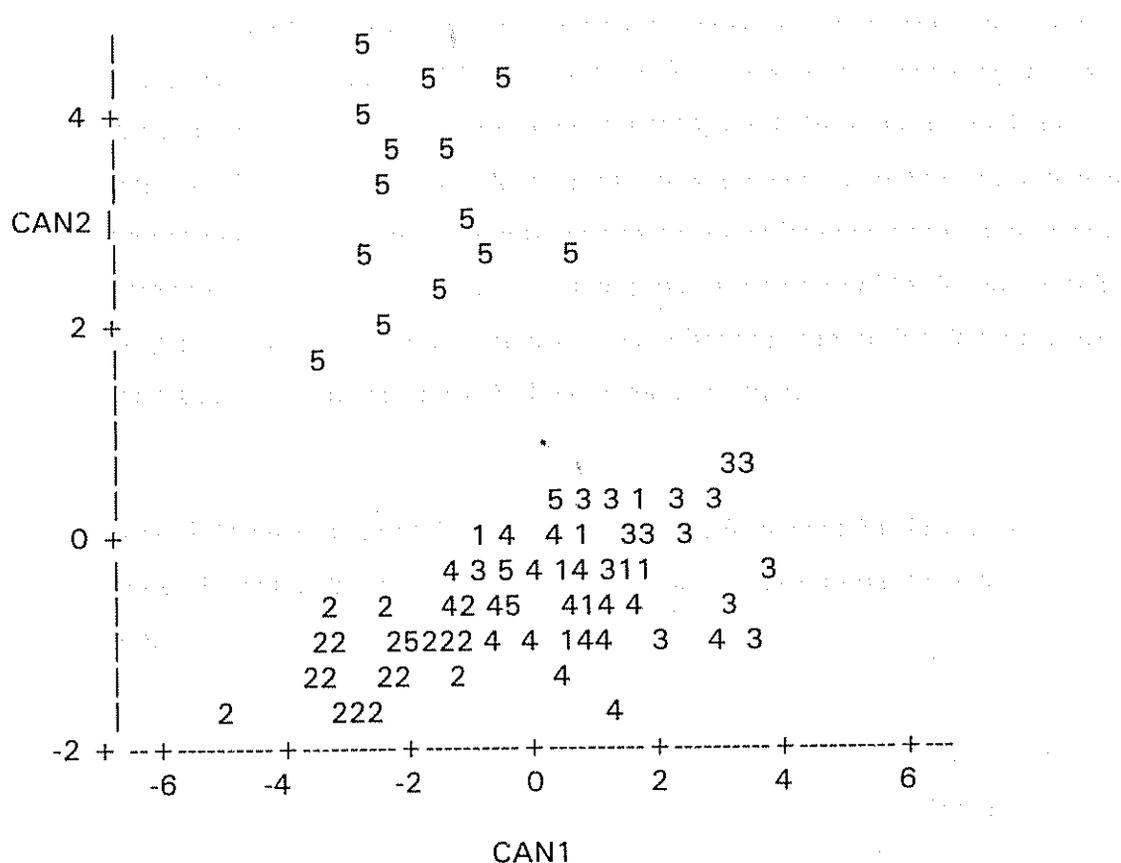
Estos análisis también han permitido determinar las variables que tienen mayor influencia en la determinación de grupos genéticos homogéneos; en este trabajo se reconocen las variables: concentración de cumarinas, altura de planta, proteína cruda, DIVMS y proantocianidinas como indicadores de grupos genéticamente homogéneos.

Se realizó también un segundo análisis discriminante canónico, incluyendo únicamente las variables que indican calidad nutricional (pared celular, proteína cruda, DIVMS, proantocianidinas y cumarinas), con el objetivo de identificar procedencias con mejores características forrajeras. En el cuadro 10 se observan las correlaciones entre las variables canónicas y las originales.

Cuadro 10. Coeficientes de correlación entre las variables canónicas y las variables originales, para ambas épocas (segundo análisis canónico).

VARIABLES ORIGINALES	VARIABLES CANONICAS				
	ÉPOCA HUMEDA		ÉPOCA SECA		
	CAN1	CAN2	CAN1	CAN2	CAN3
Pared celular	0,00	0,39**	0,39**	0,48**	0,77**
DIVMS	-0,55**	-0,18**	-0,17	-0,76**	-0,42**
Proteína cruda	0,80**	-0,12	-0,52**	0,17	-0,54**
Proantocianidinas	-0,20**	-0,14	0,19	0,62**	-0,29**
Cumarinas	-0,26*	0,94**	0,87**	0,08	-0,31**

En la época húmeda, solo las variables CAN1 y CAN2 participaron con mayor peso en el discriminante. La variable CAN1 identifica individuos con mayor contenido de proteína cruda, pero menor DIVMS y proantocianidinas. esta variable resulta un tanto ilógica porque un mayor contenido de proteína y menor proantocianidinas, normalmente indican mayor DIVMS. Sin embargo es solo la procedencia 124 la que muestra tendencia a valores altos de CAN1 (figura 6) y dado que los porcentajes de proteína cruda encontrados en estas procedencias son altos, puede considerarse que esta variable no es relevante o detrimental en la diferenciación de las procedencias.



1 = 4-92, 2 = 32-92, 3 = 124-91, 4 = 125-91, 5 = 126-91.

Figura 6. Representación de plantas de diferentes procedencias de *Gliricidia sepium* en los planos formados por las primeras variables canónicas, en la época húmeda (segundo análisis canónico).

Mientras que la variable CAN2 es una dimensión que contrapone mayor concentración de cumarinas y pared celular a menor DIVMS, siendo la procedencia 126, la única que presenta esta característica (figura 6).

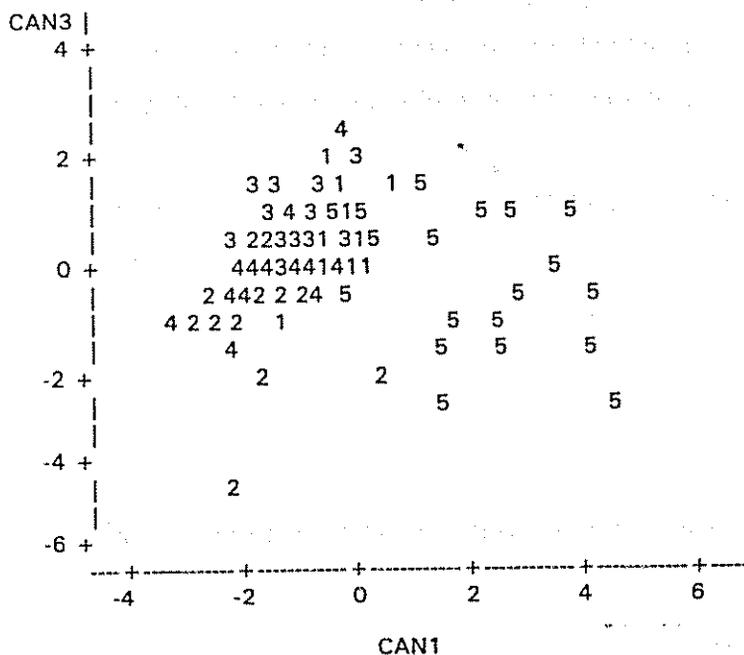
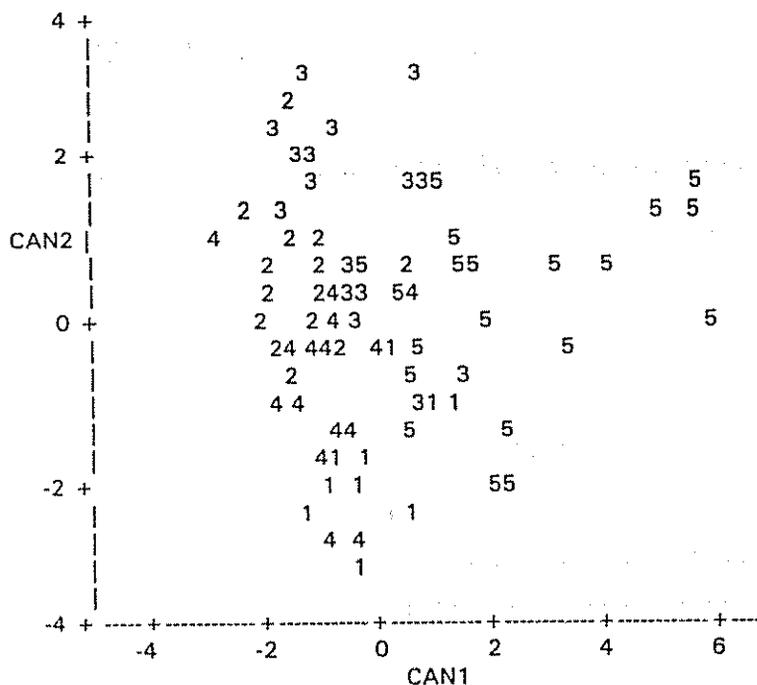
En la época seca, intervienen las tres primeras variables canónicas. En el cuadro 10 se observan las correlaciones entre las variables canónicas y las variables originales.

La variable CAN1 contrapone el contenido de pared celular y cumarinas al contenido de proteína cruda. En la figura 7, se observa que la procedencia 126 posee los valores más altos de esta variable. La variable CAN2 es una dimensión que contrapone mayor contenido de pared celular y proantocianidinas a una menor DIVMS, también en la figura 7 se observa que la procedencia 124 muestra los valores más altos de esta variable aunque algunas plantas de esta procedencia, se mezclan con las demás procedencias cuyo comportamiento es similar. La variable CAN3 identifica individuos con mayor contenido de pared celular y menor DIVMS y proteína cruda. En la figura 7 se observa que todas las procedencias presentan comportamiento similar, mezclándose unas con otras.

En ambas épocas intervienen todas las variables en la diferenciación de las procedencias; asimismo, la procedencia 126 se distingue de las demás, aparentemente posee una menor calidad forrajera.

Por tanto, en ambas épocas intervienen todas las variables en la diferenciación de las procedencias. La mayoría de las procedencias muestran comportamiento similar, únicamente la procedencia 126, parece tener menor calidad forrajera (figuras 6 y 7).

Este análisis canónico coincide con el anterior en el que se incluyeron todas las variables; en ambos, se destaca a la procedencia 126 y en cierto grado la 124 por presentar un comportamiento distinto y en desventaja con respecto a las demás.



1 = 4-92, 2 = 32-92, 3 = 124-91, 4 = 125-91, 5 = 126-91.

Figura 7. Representación de plantas de diferentes procedencias de *Gliricidia sepium* en los planos formados por las primeras variables canónicas, en la época seca (segundo análisis canónico).

## 6. EXPERIMENTO 2.

### Consumo voluntario de seis procedencias de *Gliricidia sepium* por cabras adultas.

#### 6.1 Material y métodos.

##### 6.1.1 Material experimental e infraestructura.

Para este segundo experimento se utilizaron las cinco procedencias de *Gliricidia sepium* descritas para el experimento 1, además de la procedencia establecida en los cercos vivos del CATIE, a la que se denominó con este nombre.

Para la realización de este trabajo se acondicionaron 3 corrales de 3x2 m<sup>2</sup>, con pisos elevados, bebederos y comederos. Los comederos se dividieron en siete compartimentos cada uno, para facilitar la distribución de la dieta de los animales.

Se utilizaron 12 cabras adultas (cruzas de la raza Nubianaxcriollo), con un promedio de  $38 \pm 4$  kg de peso vivo (PV).

##### 6.1.2 Conducción del experimento.

###### 6.1.2.1 Distribución, manejo y alimentación de los animales

Debido al número limitado de corrales, y para facilitar el manejo, este experimento se realizó en cuatro periodos.

Se asignaron al azar tres animales en los tres corrales disponibles, de tal forma que cada 10 días éstos se substituyeran por otros tres hasta incluir las 12 cabras. Los animales se pesaron al inicio y al final del periodo en el que participaron.

Todos los animales utilizados en este experimento se sometieron a un periodo de 10 días de adaptación al follaje de las procedencias de *Gliricidia sepium* utilizadas. Durante esos días se les proporcionó agua y sales minerales *ad libitum*, una mezcla de banano verde (*Musa sp*) y King grass (*Pennisetum purpureum* x *pennisetum typhoides*) y una mezcla de follaje de las seis procedencias en estudio.

Durante los periodos experimentales (10 días), diariamente se proporcionó *ad libitum* a cada una de las cabras, agua, sales minerales, follaje de cada una de las seis procedencias de *Gliricidia sepium* en estudio y una mezcla de banano verde (50%) y King grass (50%) a razón de 1% de materia seca en relación al peso vivo.

La distribución del follaje de las procedencias, se sorteó diariamente a los siete compartimentos para evitar el efecto de vecindad en los animales. El follaje ofrecido y el rechazado se pesó diariamente para determinar el consumo.

Las procedencias evaluadas se manejaron de tal forma que al momento de utilizar el follaje, este tuviera entre cuatro y cinco meses de madurez fisiológica.

#### 6.1.2.2 Descripción de los muestreos

Se realizaron muestreos en los días 1, 5 y 10 de cada periodo experimental.

El muestreo consistió en coleccionar material del follaje ofrecido y rechazado de cada procedencia y para cada cabra por separado. Se tomaron dos muestras cada vez, una para los análisis de laboratorio y la otra para determinación de materia seca.

Las muestras se congelaron para ser secadas posteriormente mediante liofilizado.

### 6.1.3 Variables de estudio.

- a) **Consumo de materia seca**, esta variable se expresó como materia seca consumida en relación al porcentaje del peso vivo de los animales (% PV); de esta forma se determinó el consumo de cada cabra para cada una de las procedencias y dieta básica por separado, y el consumo total.
- b) Relación entre el consumo de materia seca y la concentración de cumarinas ( $\text{mg g}^{-1}$  de MS) y proantocianidinas ( $\text{ABS}_{550} \text{g}^{-1}$  de MS) en el follaje consumido.

Como información adicional se determinó también los porcentajes de pared celular, proteína cruda y DIVMS para cada una de las procedencias; las determinaciones se realizaron mediante los métodos mencionados en el experimento 1.

### 6.1.4 Análisis estadístico.

El análisis de los datos no se basó en análisis de varianza convencional, debido a que la estructura del diseño implicaba una correlación negativa o positiva entre los consumos de las diferentes procedencias en el mismo animal.

El modelo considerado, explica el consumo (Y) como función de una media general (M), de la procedencia (P), del animal (A) y del periodo experimental (R):

$$Y = M + P + A + R + e$$

El análisis de los datos de consumo se basó en las diferencias dos a dos del porcentaje de materia seca consumida por cada cabra (% PV) para cada procedencia. Para cada animal se calcularon las  $\binom{6}{2} = 15$  diferencias. El efecto de periodo experimental fué eliminado al considerar diferencias entre consumos de diferentes dietas por una misma cabra. Se aplicó la prueba de *t* para verificar si la media de las diferencias correspondientes a cada uno de los pares de procedencias era cero.

El nivel de significancia se determinó por el criterio de Bonferroni para un nivel global de 5 o 10%, lo cual exigió pruebas individuales de 3.3 y 6.6%, respectivamente (Miller, 1985).

Se presentan las medias de consumo y los resultados de las pruebas utilizando un sistema de letras donde la misma letra indica que no hubo diferencias significativas. A la vez, se presenta la matriz de correlación entre los consumos de las seis procedencias y la concentración de cumarinas y proantocianidinas.

Se realizó también un análisis multidimensional de preferencias (Carrol, 1972), usando el procedimiento Prinqual de SAS (1989b). Los consumos de cada animal se convirtieron en rangos (1 a 6) indicando niveles de preferencias. El resultado es un gráfico bidimensional conteniendo puntos que representan a cada uno de los animales y puntos que representan a cada una de las procedencias. La distancia entre puntos animal-procedencia es inversamente proporcional a la preferencia. Al trabajar con rangos se eliminó el efecto de animal por periodo experimental

Se realizó un análisis de conglomerados (método Ward, procedimiento Cluster de SAS, 1989a) a la variable consumo para determinar la homogeneidad en el consumo de las cabras para cada procedencia. Se presentan cuadros de frecuencias para los grupos formados en este análisis.

## 6.2 Resultados y discusión.

### 6.2.1 Composición química y digestibilidad *in vitro* de los forrajes.

La composición química de los forrajes utilizados durante el experimento, se observa en el cuadro 11.

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca y la proteína cruda de las procedencias de *Gliricidia sepium* evaluadas, osciló entre 58,2 y 61,1, 22,8 y 24,8%, respectivamente. Estos valores son similares a los reportados en la literatura para la misma especie (Mendieta, 1989; Camero, 1991; Urriola, 1994) Las variaciones de estos parámetros son mínimas entre las procedencias, y en general, los valores de cada una serían suficientes para cubrir los requerimientos de mantenimiento de una cabra adulta, aun suponiendo un nivel mínimo de consumo. Sin embargo, esta suposición es ficticia, ya que los contenidos de compuestos secundarios son altos y muy variables entre las procedencias, sobre todo el de proantocianidinas, y éstos también podrían influir sobre la calidad forrajera de esta especie.

**Cuadro 11. Calidad nutritiva promedio de los componentes de la dieta suministrada a las cabras durante el periodo experimental.**

MATERIAL	Constituyentes de la materia seca				
	DIVMS (%)	Proteína cruda (%)	Pared Celular (%)	proantocianidinas (ABS g <sup>-1</sup> MS)	cumarina (mg g <sup>-1</sup> MS)
4-92*	61,1	24,7	45,0	31,4	4,4
32-92*	58,7	22,8	46,1	113,7	4,9
124-91*	58,2	24,0	45,7	80,0	4,8
125-91*	59,9	24,8	45,3	41,2	4,5
126-91*	60,5	23,4	46,5	61,8	4,6
CATIE*	60,6	24,6	47,4	39,9	4,0
Banano	89,5	4,8	-	-	-
King grass	55,7	5,4	-	-	-

\*Procedencias de *Gliricidia sepium*.

### 6.2.2 Consumo de materia seca.

Las procedencias evaluadas tuvieron consumos diferentes entre las cabras utilizadas en este ensayo. Como se observa en el cuadro 12, el consumo mayor fué para la procedencia CATIE, seguida por la 124 y 125, mientras que las procedencias 32, 126 y 4 tuvieron un consumo inferior a la procedencia CATIE e igual a las procedencias 124 y 125 ( $p < 0.05$ ).

**Cuadro 12.** Consumo de seis procedencias de *Gliricidia sepium* ofrecidas en cafetería a cabras adultas (% PV).

<b>PROCEDENCIAS</b>						
	04-92	32-92	124-91	125-91	126-91	CATIE
Consumo (X)	0,402 <sup>b</sup>	0,368 <sup>b</sup>	0,441 <sup>ab</sup>	0,430 <sup>ab</sup>	0,423 <sup>b</sup>	0,695 <sup>a</sup>

Diferente literal en la misma hilera indica diferencia estadística ( $p < 0.05$ ).

Por otra parte, se realizó un análisis de preferencias de las cabras representado en la figura 8, donde las cabras están representadas por números y las procedencias por letras; la distancia entre cabras y procedencias es inversamente proporcional a las preferencias, de tal forma que se observa la mayor agrupación de cabras en las coordenadas cercanas a la procedencia CATIE y en menor grado éstas se agrupan alrededor de las otras procedencias. Las procedencias 32, 124 y 126 tuvieron preferencias similares encontrándose en coordenadas muy cercanas entre sí, pero alejadas de la procedencia CATIE, y de las procedencias 4 y 125 que fueron las menos preferidas.

En el cuadro 13, se observan las medias de las distancias Euclidianas entre cada procedencia y las 12 cabras, en orden descendente, con el cual se corrobora que la mayor preferencia equivale a la procedencia CATIE y la menor a la procedencia 4. Si se compara este cuadro con el cuadro 12, es evidente que el orden de las procedencias en cuanto a su consumo no es igual al orden dado por las preferencias; ésto significa que una procedencia puede ser más consumida que otra, sin embargo, puede ser aceptada por un número menor de animales.



La disparidad entre el consumo y la preferencias de los animales, es un aspecto importante a considerar en las pruebas sobre el potencial forrajero de cualquier especie, puesto que, si se retira la procedencia mayormente consumida existe la posibilidad de ser reemplazada por otra con igual o mayor preferencia; por lo tanto, un mayor consumo en trabajos con alimentación en cafetería no implica superioridad en calidad forrajera. Así, Vallejo *et al.* (1994) demostraron que al proporcionar el forraje en esta forma a los animales, el más consumido es reemplazado por otro al momento de retirarlo del comedero.

**Cuadro 13.** Distancias Euclidianas entre las cabras y las seis procedencias de *Gliricidia sepium* ofrecidas en cafetería a cabras adultas.

PROCEDENCIAS	IDENTIFICACION	DISTANCIAS (X)
CATIE	a	0,858
124-91	d	2,262
126-91	f	2,274
32-92	c	2,281
125-91	e	2,451
4-92	b	2,972

Observando los consumos individuales de las cabras para cada una de las procedencias ofrecidas, se notó una gran variabilidad en el consumo diario durante cada período experimental; la figura 9 ilustra gráficamente esta variación, cuyo patrón es similar en todas las cabras. Kaitho *et al.* (sin publicar), también observaron este tipo de conducta en ovejas alimentadas con diferentes especies forrajeras; sin embargo, la variación que observaron se estabilizó después del cuarto día del periodo experimental, por lo cual, atribuyeron esta conducta al efecto de especies asociadas. En este experimento, la variación en el consumo diario no se estabilizó, por lo cual, no puede relacionarse al mismo efecto, sino a la selección animal o la presencia de compuestos secundarios en el follaje.

Las procedencias CATIE y 124, fueron las de mayor consumo y de mayor preferencia de los animales; en las otras procedencias se produce una incongruencia entre los ordenes de consumo y preferencia; en el caso especial de la procedencia 125, es de las más consumidas, pero aparece en penúltimo lugar de preferencia. Cabe recordar que las

preferencias se obtuvieron en base al ranking u orden en que los animales consumen y no en base a las cantidades consumidas.

La incongruencia encontrada entre los consumos de las cabras y sus preferencias, aunado a la variabilidad en el consumo diario de las mismas, parece indicar que existe una alta selectividad de los animales. Larby *et al.* (1993) también observaron diferencias en la aceptación relativa de 28 procedencias de *Gliricidia sepium* diferentes a éstas, aunque no reportan la variabilidad en los consumos diarios de los animales que utilizaron. Según Van Soest (1994), la selectividad animal es un factor de variación en cualquier prueba de alimentación, sobre todo, cuando se ofrece a los animales varias dietas simultáneas, debido a que éstos diariamente seleccionan de acuerdo a lo que perciben por medio del tacto, la vista y el olfato.

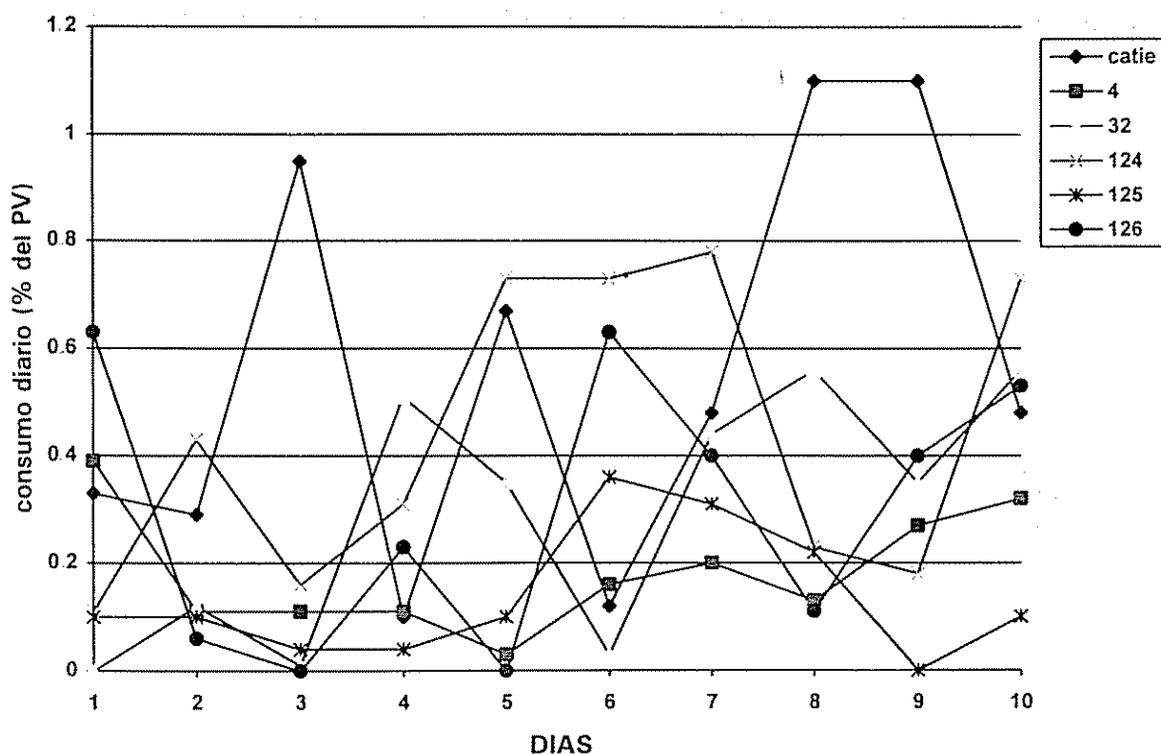


Figura 9. Consumo diario de una cabra para seis procedencias de *Gliricidia sepium* ofrecidas en cafetería.

El análisis Cluster realizado a la variable consumo de materia seca fue muy útil para comprobar si los consumos entre las cabras para cada procedencia fueron variables tal como se observó en el campo.

La proporción en que se distribuyen los consumos de las cabras en los seis grupos formados por el análisis Cluster (cuadro 14), demuestra que efectivamente los consumos de las cabras para cada procedencia no fueron uniformes, por el contrario, estas consumieron cantidades diarias de MS diferentes de cada procedencia, de lo contrario, estas últimas mostrarían una agrupación más uniforme dentro de los grupos. Únicamente la procedencia CATIE mostró homogeneidad, concentrando a la mayoría de los consumos en el grupo 1.

Los promedios de consumo para los grupos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 fueron 1,07, 0,61, 0,11, 0,27, 0,45 y 0,80, respectivamente. El grupo 1 fué el que concentró los consumos más altos, de los cuales la mayoría correspondieron a la procedencia CATIE (69%). Los demás grupos concentraron consumos de todas las procedencias en tal forma, que es difícil identificar a cada uno de ellos con una procedencia.

**Cuadro 14. Distribución de frecuencias de los consumos de las cabras en los grupos formados por el análisis Cluster.**

GRUPOS	PROCEDENCIAS					
	CATIE	4-92	32-92	124-91	125-91	126-91
Grupo 1	52	5	0	5	12	1
Grupo 2	18	22	14	20	16	30
Grupo 3	18	39	41	51	37	21
Grupo 4	17	29	35	16	19	33
Grupo 5	19	37	26	29	24	51
Grupo 6	29	18	19	32	46	17

Benneker y Vargas (1994), en un trabajo realizado en Colombia, también observaron diferencias en la aceptabilidad del follaje de las mismas procedencias de *Gliricidia sepium*,

ofrecidas en cafetería a ovinos; asimismo, determinaron a la procedencia 32 (nativa de Colombia) como la mejor consumida y las procedencias 124 y 125 como las menos consumidas. Las procedencias nativas fueron las más consumidas en ambos trabajos, y en éste, las procedencias 124 y 125 fueron las mejores después de la procedencia CATIE, mientras que la 32 se situó entre las de menor consumo y preferencia. Es posible que las preferencias entre ovinos y cabras sea distinta; Marten (1978) reconoció diferencias en la selectividad y preferencias entre especies de rumiantes; o pudiera ser que la composición química de las procedencias haya sido diferente entre ambos lugares. Van Soest (1994) ha demostrado que la composición química y calidad forrajera de una procedencia puede diferir al manejarse en ambientes diferentes a su hábitat.

Por su parte, Ruíz (1992) al igual que Benneker y Vargas (1992), reporta diferencias en el consumo de ovinos entre procedencias de *Gliricidia sepium*, aunque no encontró superioridad de las procedencias nativas; en cambio, en este trabajo no se encontró diferencias entre las procedencias introducidas, posiblemente al ofrecimiento de una con calidad forrajera aparentemente superior, como lo fué la procedencia CATIE. Rodríguez *et al.* (1994), también observaron un mayor consumo de cabras para la procedencia CATIE que para otra traída de otra region geográfica de Costa Rica, atribuyéndolo a diferencias en contenido de materia seca y digestibilidad del follaje, pero también sugirieron posibles diferencias en el contenido de compuestos secundarios, entre procedencias y/o época del año.

Los consumos totales de materia seca variaron entre 2,68 y 4,28 % del PV de los animales (figura 10). Puede pensarse que aunque el consumo de las cabras fue diferente entre algunas procedencias, el consumo total no sufrió grandes cambios debidos a factores adherentes a las procedencias.

La mayoría de los animales consumieron más del 3% del PV. Estos consumos son comparables a los reportados por Urriola (1994) en cabras alimentadas con *Gliricidia sepium* (3,5 a 4% PV) y suplementadas con king grass. También pueden compararse al 3,5% reportado por Benavides y Pezo (1986) citados por Benavides (1994), en cabras alimentadas con *Erythrina poeppigiana* como dieta única. Rojas y Benavides (1994), reportan un consumo mayor a los encontrados en este trabajo (5,6% del PV), para cabras

alimentadas con pasto King grass (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides*) y follaje de Morera (*Morus* sp) en un nivel de 3,5% del PV; sin embargo, esto se debe a que esas cabras estaban en producción. Asimismo, López *et al.* (1994) reporta un consumo de 5,1% del PV, de cabras en producción, alimentadas con King grass y Amapola (*malvaviscus arboreus*) en niveles de 3,5% del PV, sin embargo, al reducir la oferta de Amapola, encontró consumos similares a los de este trabajo (3,8 a 4,7% del PV).

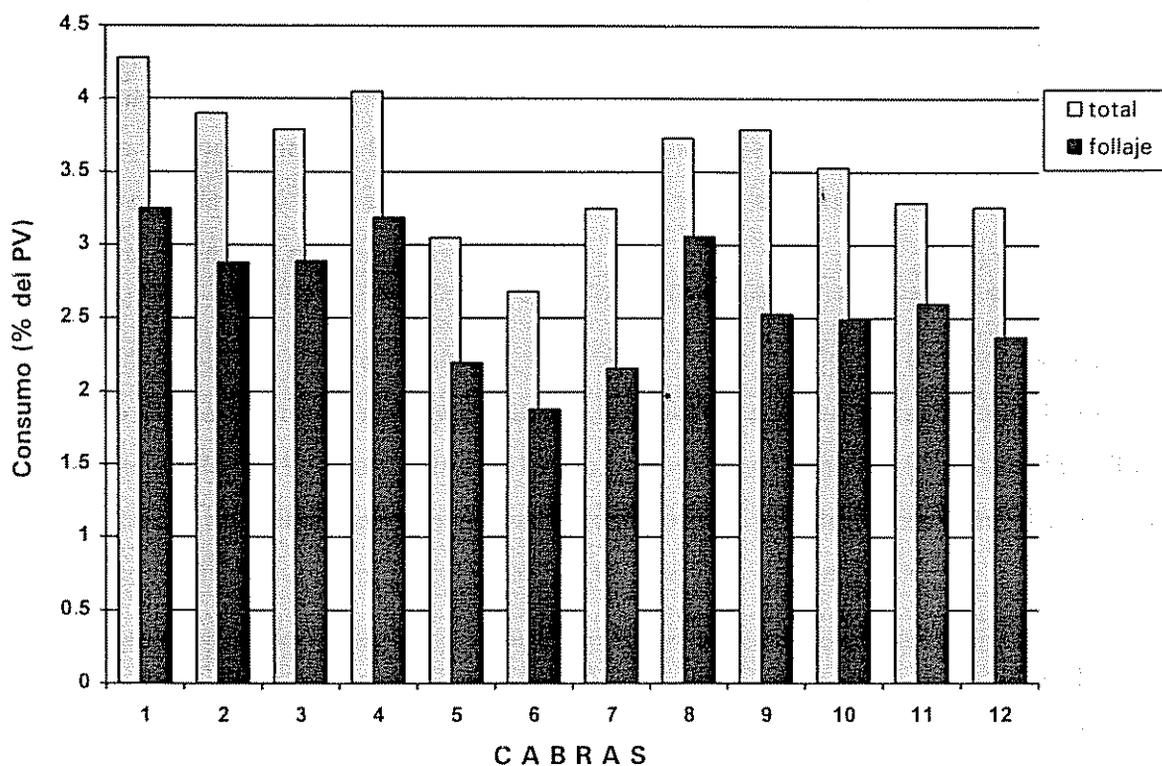


Figura 10. Consumo total (follaje + pasto-banano) y de follaje de *Gliricidia sepium* ofrecidos en cafetería a 12 cabras adultas.

### 5.2.2 Correlación entre el consumo de materia seca y la composición química de *Gliricidia sepium*.

Al correlacionar los consumos de todas las cabras juntos y las variables DIVMS, proteína cruda, pared celular, proantocianidinas y cumarinas, únicamente se observó una correlación negativa baja pero altamente significativa, entre el consumo y el contenido de cumarina ( $r = -0,18$ ).

La correlación entre los consumos individuales de cada cabra y las demás variables no fueron consistentes; se observaron correlaciones con los compuestos secundarios únicamente para tres cabras. El consumo de la cabra 2 se vió afectado por el contenido de proantocianidinas ( $r = -0,44$ ) y los consumos de las cabras 7 y 8 fueron afectados por el contenido de cumarinas en el follaje ( $r = -0,74$  y  $r = -0,51$ , respectivamente). Puesto que únicamente el consumo del 8 y el 17% de las cabras se correlacionaron con el contenido de proantocianidinas y cumarinas, respectivamente, no es posible asegurar si el consumo es realmente afectado por estos compuestos.

En diversos trabajos sobre consumo y aceptabilidad de follaje de *Gliricidia sepium*, se ha especulado sobre el efecto negativo que las cumarinas pueden tener sobre el consumo de los animales (Ruíz, 1992; Larby *et al.*, 1993; Benneker y Vargas, 1994; Urriola, 1994); sin embargo, no se ha trabajado para probar esta hipótesis, por tanto es este el primer indicio sobre el papel de las cumarinas en la calidad forrajera de esta especie.

El efecto de las proantocianidinas no quedó bien definido en este estudio, solamente se correlacionó con el consumo de una cabra y no apareció como una de las variables que explicaran el consumo de materia seca de las cabras, como fué el caso de las cumarinas. Las proantocianidinas o taninos condensados, se ha dicho son los fenoles que más afectan la calidad de los forrajes, por su efecto negativo sobre la digestibilidad de los constituyentes de la pared celular (Kumar y Vaithyanathan, 1990; Van Soest, 1994), sin embargo, no hubo indicios de este efecto sobre el consumo de materia seca en este trabajo.

Es posible que el efecto de las proantocianidinas sea más claro sobre la digestibilidad de las proteínas que sobre el consumo de materia seca, tal como lo han demostrado Egan y Ulyatt (1980) y Tanner *et al.* (1994).

Es también posible, que en los materiales evaluados hayan estado presentes otros compuestos que no se determinaron y que estuvieran afectando el consumo de los animales. Onwuka (1992), realizó un trabajo muy completo, en el cual encontró que el contenido de saponinas y fenoles totales en el follaje de *Gliricidia sepium* afectaron el consumo de cabras.

## 7. CONCLUSIONES

1. Las variables producción de materia seca por planta, biomasa comestible, relación hoja:tallo, altura de planta, número de ramas, proteína cruda, pared celular, DIVMS y proantocianidinas, presentan diferencias entre procedencias y son afectadas por la época del año; mientras que la concentración de cumarinas, únicamente varía por efecto de las procedencias.
2. Todas las procedencias evaluadas, poseen individuos con características superiores o inferiores a los demás miembros de su clon. Sin embargo, las procedencias 4 y 125, en la época húmeda y las procedencias 32 y 124 en la época seca, presentaron comportamiento más uniforme.
3. Las variables cumarinas, proteína cruda, DIVMS, proantocianidinas y altura de plantas, presentaron el mayor poder discriminante, facilitando la identificación de grupos genéticamente homogéneos y de individuos que pertenecen a una procedencia pero su comportamiento es similar a los individuos de otra.
4. Las procedencias 4, 32 y 125, sobresalieron por sus características dasométricas, nutricionales y químicas; sin embargo, valores de proteína cruda y DIVMS de todas las procedencias, son los que se esperarían de cualquier especie leguminosa con potencial forrajero.
5. Las procedencias CATIE (nativa), 124 y 125 (introducidas), fueron las más consumidas en esta investigación; sin embargo, los consumos para las procedencias introducidas fueron iguales entre sí (4, 32, 124, 125 y 126).
6. Los consumos de cabras adultas no fueron afectados por la concentración de proantocianidinas; mientras que las cumarinas sí afectaron ligeramente esta variable.
7. La aceptabilidad de una procedencia puede no estar asociada con la cantidad consumida de la misma. Una procedencia puede ser más consumida, pero preferida por menos animales, lo cual puede tener implicaciones en la toma de decisiones sobre la calidad forrajera de las especies leñosas.

## 8. RECOMENDACIONES

En trabajos posteriores, se recomienda tomar en cuenta otras variables morfológicas y dasométricas para detectar la heterogeneidad genética entre individuos de una procedencia de *Gliricidia sepium*.

El análisis de las pruebas de consumo de especies forrajeras ofrecidas en cafetería, debieran complementarse con el análisis multidimensional de preferencias, o la sustracción gradual de los forrajes más consumidos. Esto puede ser una herramienta útil para tomar decisiones sobre aquellas especies o genotipos de una especie que no presenten los mayores consumos, puesto que un menor consumo puede no ser indicativo de menor aceptabilidad.

Es necesario determinar el efecto de otros compuestos secundarios tales como fenoles totales y saponinas para explicar la variación en el consumo de diferentes procedencias de *Gliricidia sepium*.

## 9. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- ADEJUMO, J.O. 1992. Effect of plant age and harvest date in the dry season on yield and quality of *Gliricidia sepium* in southern Nigeria. *Tropical grasslands* 26:21-24.
- AHN, J.H., ROBERTSON B.M., ELLIOTT R., GUTTERIDGE R.C. and FORD C.W. 1989. Quality assessment of tropical browse legumes: Tannins content and protein degradation. *Animal Feed Sciences and Technology* 27:147-156.
- ATTA-KRAH, A.N. and SUMBERG J.E. 1988. Studies with *Gliricidia sepium* for crops/livestock production systems in West Africa. *Agroforestry Systems* 6:97-118.
- BARRY, T.N. 1985. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 3. Rates of bory and wood growth. *British Journal of Nutrition* 54:211-217.
- BARRY, T.N. and DUNCAN, S.J. 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 1. Voluntary intake. *British Journal of Nutrition* 51:485-491.
- BATEMAN, V.J. 1970. 8. La proteína. *En Nutrición animal: Manual de Métodos Analíticos*. Edit. Herrero Hermanos, sucesores, S.A. México. P 150-191.
- BENAVIDES, J. 1994. Follaje de Poró (*Erythrina poeppigiana*) y fruto de musáceas como suplementos para rumiantes menores en estabulación. *En Árboles y arbustos forrajeros en America Central*. Benavides J.E. (Ed.). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Vol 1:341-356.

- BENNEKER, C. Y VARGAS J.E. 1994. Estudio del consumo voluntario de 5 ecotipos de matarratón realizado con ovejas africanas bajo tres dietas diferentes. *Livestock Research for Development* 6(1):81-89.
- BRAY, R.A.; IBRAHIM T.; PALMER B. AND SCHLINK A.C. 1993. Yield and quality of *Gliricidia sepium* accesions at two sites in the tropics. *Tropical Grasslands* 27:30-36.
- CAMACHO, H.Y.M. 1991. Comportamiento de procedencias y familias de *Gliricidia sepium* (Jacq) Steud. a los 12 meses de edad en condiciones del trópico húmedo de Costa Rica. Tesis *Magister Scientiae*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. C.R.
- CAMERO, R.L.A. 1991. Evaluación del Poró (*Erythrina poeppigiana* (Walpers) O.F. Cook) y Madero Negro (*Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud.) como suplementos protéicos para vacas lecheras alimentadas con heno de jaragua (*Hyparrhenia rufa*). Tesis *Magister Scientiae*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Costa Rica.
- CHAMBERLAIN, J.R. AND GALWEY N.W. 1993. Methods of identifying genetic diversity in *Gliricidia sepium* species for biomasa production. *Experimental Agriculture* 29:87-96.
- CARROL, J.D. 1972. "Individual differences and multidimensional scaling", In *Multidimensional scaling: Theory and Applications in the Behavioral Sciences*. R.N. Shepard, A.K, Romney and S.B. Nerlove (Eds.) Vol. 1. New York, Seminar press.
- CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA (CATIE). 1991. Madero negro (*Gliricidia sepium* (Jacquin) Kunth ex Walpers), especie de árbol de uso múltiple en América Central. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 72 p (Serie Técnica, informe técnico no. 180).
- COBBINA, J. AND ATTA-KRAH A.N. 1992. Forage production of *Gliricidia* accesions on a tropical alfisol soil in Nigeria. *Tropical Grasslands* 26:248-254.

- CONOVER, J.W. and IMAN L.R. 1981. Rank transformation as a bridge between parametric and nonparametric statistics. *The American Statistician* 35(3):124-133.
- DAVIS, E.G., ASHTON, W.M. and BORRIL M. 1962. Distribution of coumarin and related compounds during leaf growth. *British Grassland Society* (G.B.). 17:294-299.
- DE LA FUENTE, M.B.A. 1990. Estudio de aditivos y cinética del ensilaje de madero negro (*Gliricidia sepium*). Tesis *Magister Scientiae*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. C.R. 97 p.
- EGAN, A.R. and ULYATT M.J. 1980. Quantitative digestion of fresh herbage by sheep: VI Utilization of nitrogen in five herbages. *Journal of Agriculture Science* 94:47-56.
- ELLA, A., BLAIR G.J. and STUR W.W. 1991. Effect of age of forage tree legumes at the first cutting on subsequent production. *Tropical grasslands* 25:275-280.
- ERDMANN, T.K., NAIR P.K.R. and KANG B.T. 1993. Effects of cutting frequency and height on reserve carbohydrates in *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp. *Forest Ecology and management* 57:45-60.
- FLORES, R.O.I. 1994. Caracterización y evaluación de follajes arbóreos para la alimentación de rumiantes en el departamento de Chiquimula, Guatemala. *En Árboles y arbustos forrajeros en America Central*. Benavides J.E. (Ed.). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Vol 1:117-133.
- GLOVER, N.L. 1989. *Gliricidia* production and use . Waimanalo, Hawaii, EE UU. *Nitrogen Fixing Tree Association*. 44 p.
- GRAY, A. and WATERMAN P.G. 1978. Coumarins in the intaceae. *Phytochemistry* 17:845-856.

- GOERING, H.K. and VAN SOEST, P.J. 1970. Forage fiber analysis. *Agriculture Research Handbook No 379*. ARS-USDA. Washington, D.C. 20 p.
- GRIFFITHS, L.A. 1962. On the co-occurrence of Coumarin, o-Coumaric Acid, and Melilotic Acid in *Gliricidia sepium* and *Dipteryx odorata*. *Journal of Experimental Botany*. 13(38):167-175.
- HAGERMAN, A.E., ROBBINS C.T., WEERASURIYA Y., WILSON T.C. and McARTHUR C. 1992. Tannin chemistry in relation to digestion. *Journal of Range Management* 45:57-62.
- HARBORNE, J.B. 1991. *Phytochemical methods*. Chapman and Hall, New York, U.S.A.
- HERNANDEZ, N.M.J. 1988. Efectos de las podas al final de la época lluviosa en cercos vivos de Piñón Cubano (*Gliricidia sepium*) sobre la producción y calidad nutritiva de la biomasa comestible en le época seca. Tesis *Magister Scientiae*. C.R. 106 p.
- HOLDRIDGE, L. 1978. *Ecología basada en zonas de vida*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), San José, Costa Rica. 106 p.
- IBRAHIM, M.A. 1994. Compatibility, persistence and productivity of grass-legume mixtures for sustainable animal production in the Atlantic Zone of Costa Rica. Thesis Wageningen. CIP-DATA KONINKLIJKE BIBLIOTTHEEK, DEN HAAG. 129 P.
- IFUT, O.J. 1989. Utilization of *Gliricidia sepium* and cassava peels by west African dwarf (WAD) goats in Nigeria. In *Overcoming constrains to the eficiencia utilization of agricultural by products and animal feed*. Said A.N. and Dzewela B.H. (eds). Proceedings 4th Annual Workshop held at the Institute of Animal Research, Mankon Station, Bamenda Cameron. Abada, Etiopia. P 290-305.

- KAITHO, R.J., UMUNNA N.N., NSAHLAI I.V. TAMMINGA S. VAN BRUCHEM J., HANSON J. and VAN der WOUW M. \_\_\_\_\_. Palatability of 40 multipurpose tree species to sheep. International Livestock Research Institute (ILRI). Department of Nutrition, Wageningen Agricultural University, Wageningen, Netherlands.
- KASS, M. 1991. Use of Poro (*Erythrina* spp) and Madero negro (*Gliricidia sepium*) as a protein source for dairy cattle. Interim Progress Report No. 2 Proyect AID-SCI 936-5542-12. 27 p.
- KASS, M. L. y RODRIGUEZ G. 1987. Manual de evaluación nutricional de pastos y forrajes. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Departamento de Producción Animal. Turrialba, Costa Rica. 48 p.
- KUMAR, R. and VAITHIYANATHAN, S. 1990. Ocurrence, nutritional significance and effect on animal productivity of tannins in tree leaves. *Animal Feed Science and Technology* 30:21-38.
- KUMAR, R. and SINGH, M. 1984. Tannins: Their adverse role in the ruminant nutrition. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 32(3):447-453.
- LARBI, A.; OSAKWE I.I. and LAMBOURNE J.W. 1993. Variation in relative palatability to sheep among *Gliricidia sepium* provenances. *Agroforestry Systems* 22:221-224.
- LIYANAGE, M.S., JAYASUNDARA H.P.S. and LIYANAGE L.V.K. 1991. Evaluation of *Gliricidia sepium* provenances for the low country humid zone of Sri Lanka. *The International Tree Crops Journal* 7:83-94.
- LÓPEZ, G.Z., BENAVIDES J., KASS M. y FAUSTINO J. 1994. Efecto de la suplementación con follaje de Amapola (*Malvaviscus arboreus*) sobre la producción de leche en cabras estabuladas. *En Árboles y arbustos forrajeros en America Central*. Benavides J.E.

- (Ed.). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Vol 1:321-339.
- LÓPEZ, O.S. 1994. Determinación de taninos y cumarina en dos procedencias de *Gliricidia sepium*. Tópico especial, Maria Kass (Profr. Consejero). Centro Agronómico Tropical de Investigación y enseñanza (CATIE). Turrialba, C.R. S.p. (mimeo.).
- MARTEN, G.C. 1978. The animal-plant complex in forage palatability phenomena. *Journal of Animal Science* 46(5):1470-1477.
- MENDIETA, L.M. 1989. Caracterización de la composición química de procedencias y familias de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp de México, América Central y Panamá. Tesis *Magister Scientiae*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). C.R. 75 p.
- MILLER, R.G. 1985. Bonferroni *t* statistics. *In* Simultaneous statistical inference. Springer Series in Statistics. Edt. McGraw-Hill, inc. •U.S.A. Second printing. p 67-69.
- MOCHIUTTI, S. 1995. Comportamiento agronómico y calidad nutritiva de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp bajo defoliación manual y pastoreo en el trópico húmedo. Tesis *Magister Scientiae*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). C.R. 145 p.
- MOLYNEUX, J.R. and RALPHS, H.M. 1992. Plant toxins and palatability to herbivores. *J. Range Management* 45:13-18.
- ONWUKA, C.F.I. 1992. Tannin and saponin contents of some tropical browse species fed to goats. *Tropical Agriculture* 69(2):176-180.

- PEDRAZA, R.M. 1994. Rendimiento, composición química y digestibilidad del follaje de postes vivos de *Gliricidia sepium* a diferentes edades de rebrote. *Pastos y Forrajes* 17:175-181.
- PERERA, A.N.F., PERERA E.R.K. and WEERAWARDANE N.D. \_\_\_\_\_. Performance of introduced *Gliricidia* provenances in dry region of Sri Lanka. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture. University of Paredeniya, Paradeniya, Sri Lanka.
- REED, J.D. 1986. Relationships among soluble fenolic, insoluble proantocyanidins and fiber in east Africa browse specie. *Journal of Range Management*. 39:5-7.
- REED, J.D., McDOWELL, E., VAN SOEST, P.J. and HORVATH, P.J. 1982. Condensed tannins: A factor limiting the use of Cassava forage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 33:213-220.
- REED, J.D., SOLLER H. and WOODWARD A. 1990. Fodder tree and straw diets for sheep: intake, growth, digestibility and the effects of phenolics on nitrogen utilization. *Anim. Feed Sci. Technol.* 30:39-50.
- RITTNER, U. and REED J. D. 1992. Phenolics and In-vitro degradability of protein and fiber in West African Browse. *J. Sci. Food Agric.* 58:21-28.
- RODRIGUEZ, Z. 1989. Producción de leche de cabras alimentadas con dos especies de leguminosas forrajeras arbóreas: Poró (*Erythrina poeppigiana*) y Madero negro (*Gliricidia sepium*) suplementadas con Plátano Pelipita (*Musa* sp. cv. "Pelipita"). Tesis Lic. Ing. Agr. San José, Costa Rica. U.C.R. 75 p.
- ROBINS,C.T., HANLEY T.A., HJELJORD O., BAKER D.L., SCHWARTZ C.C. and MAUTZ W.W. 1987. Role of tannins in defending plants against ruminants: Reduction in protein availability. *Ecology* 68(1):98-107.

- RODRIGUEZ, Z., BENAVIDES J., CHAVES C. y SANCHEZ G. 1994. Producción de leche de cabras alimentadas con follaje de Madero Negro (*Gliricidia sepium*) y Poró (*Erythrina poeppigiana*) y suplementadas con fruto de platano Pelipita (*Musa* sp cv. Pelipita). *En Árboles y arbustos forrajeros en America Central*. Benavides J.E. (Ed.). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Vol 1:295-303.
- ROJAS, H. y BENAVIDES J. 1994. Producción de leche de cabras alimentadas con pasto y suplementadas con altos niveles de Morera (*Morus* sp.). *En Árboles y arbustos forrajeros en America Central*. Benavides J.E. (Ed.). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Vol 1:305-320.
- RUIZ, F.C.J. 1992. Aceptabilidad por ovinos de la biomasa comestible de procedencias, familias e individuos de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Waip, Guapiles, Costa Rica. Tesis *Magister Scientiae*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. C.R.
- SAS INTITUTE INC., SAS/STAT. 1989a. User's Guide, version 6, Fourth edition, Vol. 1, Cary, N.C: SAS Institute Inc., 943 p.
- SAS INTITUTE INC., SAS/STAT. 1989b. User's Guide, version 6, Fourth edition, Vol. 2, Cary, N.C: SAS Institute Inc., 846 p.
- STEEL, G.D.R. y TORRIE, H.J. 1985. Bioestadística: principios y procedimientos. Editorial McGraw-Hill. 2a Edición. Colombia. 622 p.
- TANNER, G.J., MOORE A.E. and LARKIN P.J. 1994. Proanthocyanidins inhibit hydrolysis of leaf proteins by rumen microflora *in vitro*. *British Journal of Nutrition* 71:947-958.
- URRIOLA, E.D.M. 1994. Efecto de la edad de rebrote sobre la composición química y digestibilidad *in vitro* de cinco procedencias de *Gliricidia sepium* (Jacq) y su aceptabilidad por cabras adultas. Tesis *Magister Scientiae*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. C.R. 92 p.

- VALLEJO, M., LAPOYADE N. y BENAVIDES J.E. 1994. Evaluación de la aceptabilidad de forrajes arbóreos por cabras estabuladas en Puriscal, Costa Rica. *En Árboles y arbustos forrajeros en America Central*. Benavides J.E. (Ed.). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Vol 1:237-248.
- VAN SOEST, P. 1994. Plant defensive chemicals. *In Nutritional Ecology of the Ruminant*. O & B books Inc (2nd ed.). United States of America. p 196-212.
- VAN SOEST, P. 1994. Fiber and physicochemical properties of feeds. *In Nutritional Ecology of the Ruminant*. O & B books Inc (2nd ed.). United States of America. p 140-155.
- WILSON, J.R. 1984. Environmental and nutritional factors affecting herbage quality. *In Nutritional limits to animal production from pastures*. Hacker J.B. (Ed). Proceedings of an international symposium held at St. Lucia, Queensland, August 24th-28th, 1981. Commonwealth Agricultural Bureaux. P 111-131.

## 10. ANEXOS

Anexo 1. Variación entre los árboles de cinco procedencias de *Gliricidia sepium* (X ± DE).

VARIABLES	PROCEDENCIAS				
	4-92	32-92	124-91	125-91	126-91
Producción de materia seca (gr planta <sup>-1</sup> )	214,1 ± 144	48,5 ± 60	174,2 ± 149	168,5 ± 129	99,2 ± 86
Relación hoja:tallo	1,96 ± 1,2	2,80 ± 1,5	2,78 ± 2,1	1,70 ± 1,1	1,94 ± 1,1
Altura de planta (m)	1,59 ± 0,7	0,71 ± 0,3	1,33 ± 0,7	1,75 ± 0,9	1,15 ± 1,6
Número de ramas por planta	7,05 ± 2,9	7,23 ± 3,0	9,0 ± 6,0	5,4 ± 2,5	7,2 ± 2,9
Pared celular (%)	42,9 ± 4,5	41,7 ± 4,6	45,1 ± 3,0	40,9 ± 4,3	44,8 ± 3,9
Digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS (%)	65,9 ± 4,2	66,1 ± 4,0	60,7 ± 3,8	66,8 ± 2,8	64,3 ± 3,6
Proteína cruda (%)	23,3 ± 1,2	22,6 ± 3,4	23,8 ± 1,2	24,0 ± 1,6	22,1 ± 2,0
Proantocianidinas (ABS <sub>550g</sub> <sup>-1</sup> de MS)	25,2 ± 11,4	56,2 ± 54,7	77,4 ± 45,9	22,7 ± 7,5	59,2 ± 38,4
Cumarinas (mg g <sup>-1</sup> de MS)	5,0 ± 1,62	4,6 ± 1,6	4,7 ± 1,9	4,7 ± 1,6	23,4 ± 14,6

**Anexo 2. Medias y desviaciones estandar de las variables transformadas para cinco procedencias de *Gliciridia sepium* en dos épocas del año.**

VARIABLE (EPOCA)	PROCEDENCIAS				
	4-92	32-92	124-91	125-91	126-91
Relación hoja:tallo (húmeda)	-0,24 ± 0,4	0,58 ± 0,4	0,16 ± 0,3	-0,19 ± 0,2	0,08 ± 0,4
Relación hoja:tallo (seca)	1,11 ± 0,2	1,22 ± 0,4	1,39 ± 0,4	0,87 ± 0,4	0,96 ± 0,33
Número de ramas (húmeda)	1,6 ± 0,5	1,6 ± 0,4	1,5 ± 0,3	1,3 ± 0,4	1,7 ± 0,5
Número de ramas (seca)	2,1 ± 0,4	2,2 ± 0,3	2,5 ± 0,5	1,9 ± 0,4	2,1 ± 0,3
Proantocianidinas (húmeda)	3,3 ± 0,3	3,3 ± 1,2	4,3 ± 0,6	3,2 ± 0,4	3,8 ± 0,7
Proantocianidinas (seca)	2,9 ± 0,6	3,5 ± 1,3	4,0 ± 0,7	3,0 ± 0,3	4,0 ± 0,6
cumarinas (efecto simple)	1,54 ± 0,4	3,51 ± 0,4	1,4 ± 0,7	1,42 ± 0,6	2,83 ± 1,0

**Anexo 3. Análisis de varianza para la producción de materia seca por planta, de cinco procedencias de *Gliricidia sepium*.**

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Procedencia	4	581054,16	145263,54	44,78**
Planta (Procedencia)	85	881798,52	10374,10	3,20**
Epoca	1	1003669,34	1003669,34	309,42**
Procedencia*epoca	4	178661,37	44665,34	13,77**

**Anexo 4. Análisis de varianza para la producción de biomasa comestible de cinco procedencias de *Gliricidia sepium*.**

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Procedencia	4	146072,2	36518,0	40,6**
Planta (Procedencia)	85	295751,1	3479,4	3,87**
Epoca	1	172856,0	172856,0	192,2**
Procedencia*epoca	4	24064,6	6016,2	6,69**

**Anexo 5. Análisis de varianza para la relación hoja:tallo de cinco procedencias de *Gliricidia sepium*.**

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Procedencia	4	8,3658	2,0915	24,61**
Planta (Procedencia)	85	13,5240	0,1591	1,87**
Epoca	1	43,9392	43,9392	517,07**
Procedencia*epoca	4	2,7519	0,6880	8,10**

**Anexo 6. Análisis de varianza para la altura de plantas de cinco procedencias de *Gliricidia sepium*.**

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Procedencia	4	24,3565	6,0891	135,87**
Planta (Procedencia)	85	6,7274	0,0791	1,77**
Epoca	1	53,1380	53,1380	1185,73**
Procedencia*epoca	4	6,2500	1,5625	34,87**

**Anexo 7. Análisis de varianza para número de ramas de cinco procedencias de *Gliricidia sepium*.**

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Procedencia	4	4,2858	1,0714	13,23**
Planta (Procedencia)	85	18,8400	0,2216	2,74**
Epoca	1	16,4870	16,4870	203,55**
Procedencia*epoca	4	1,5389	0,3847	4,75**

**Anexo 8. Análisis de varianza para porcentaje de proteína cruda de cinco procedencias de *Gliricidia sepium*.**

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Procedencia	4	107,79	26,95	24,32**
Planta (Procedencia)	85	228,28	2,69	2,42**
Epoca	1	276,52	276,52	249,6**
Procedencia*epoca	4	184,77	46,19	41,69**

**Anexo 9. Análisis de varianza para porcentaje de pared celular de cinco procedencias de *Gliricidia sepium*.**

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Procedencia	4	537,81	134,45	17,49**
Planta (Procedencia)	85	1086,65	12,78	1,66**
Epoca	1	980,00	980,00	127,51**
Procedencia*epoca	4	123,86	30,96	4,03**

**Anexo 10. Análisis de varianza para digestibilidad *in vitro* de la materia seca de cinco procedencias de *Gliricidia sepium*.**

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Procedencia	4	884,92	221,23	41,15**
Planta (Procedencia)	85	1402,58	16,50	3,07**
Epoca	1	318,80	318,80	59,30**
Procedencia*epoca	4	86,04	21,51	4,00**

**Anexo 11. Análisis de varianza para concentración de proantocianidinas de cinco procedencias de *Gliricidia sepium*.**

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Procedencia	4	32,6094	8,1523	66,56**
Planta (Procedencia)	85	92,3216	1,0861	8,87**
Epoca	1	0,5278	0,5278	4,31**
Procedencia*epoca	4	2,5442	0,6360	5,19**

**Anexo 12. Análisis de varianza para concentración de cumarina de cinco procedencias de *Gliricidia sepium*.**

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Procedencia	4	60,0454	15,1113	329,66**
Planta (Procedencia)	85	75,4698	0,8879	19,50**
Epoca	1	0,0040	0,0040	0,09ns
Procedencia*epoca	4	0,2122	0,0530	1,17ns