

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Diego Chamorro¹,
Juan Evangelista Carulla² y
Pablo Cuesta¹

ABSTRACT

Title: Microbial *in situ* degradation of grasses and legumes leaf tissues and its relationship with nutritional quality and precipitation

A study was conducted to measure the *in situ* degradation of plant tissues and its relationship with forage chemical composition in leaves of the grasses *Bouteloua repens* and *Bothriochloa pertusa* and of the legumes *Stylosanthes scabra*, *Desmodium barbatum* and *Tephrosia cinerea*. Forage samples of 10 mm in length were incubated in the rumen for 0, 12, 24, 48 and 72 h and tissue residual area was determined by reading the residual area in eight digitalized leaf samples per forage. In *B. pertusa*, after 24 and 48 h of incubation there were positive relations between the degradation of adaxial epidermis (AE) and the neutral detergent fiber (NDF, $R^2 = 90,2$), between mesophyll and *in vitro* dry matter degradability (IVDMD, $R^2 = 80,1$), and between slowly degradable tissues (SDT) and the acid detergent fiber (ADF, $R^2 = 83,9$); and negative relationships between AE and IVDMD ($R^2 = -73,1$), between SDT and effective dry matter degradation (EDMD, $R^2 = -74,3$), between AE and crude protein (CP, $R^2 = -87,6$), and between sclerenchyma and IVDMD with CP ($R^2 = -84,3$ and $R^2 = -90,8$, respectively). After 72 h of incubation, the greater residual areas in grasses were the Kranz structure (34.2% to 36.5%), mesophyll (20.9% to 21.4%), xylem (11.5% to 17.1%) and AE (11.8% to 13.9%). The area of sclerenchyma was related closely to indicators of nutritional quality. Overall, the grasses had greater content of non-degradable tissues than the legumes; therefore, their IVDMD and EDMD were lower. Among the legumes, *S. scabra* showed the greater digestibility of rapidly degradable tissues, both during the rainy and dry seasons. At the dry season, the degradation of these tissues increased by 134.6%. Additionally, in this legume, the content of tannins did not have a direct relationship with the degradation of mesophyll. The rate and extension of the degradation of epidermis in legumes, were noticeably increased with increasing length of incubation, existing differences between species, a situation which was not observed in the grasses. In *D. barbatum*, the degradation of the AE was positively associated with both the IVDMD and EDMD ($R^2 = 77,4\%$ and $72,95\%$, respectively). On the other hand, the degradability of epidermis and the percentage of NDF had negative relations with ADF, lignin and tannins ($R^2 = -0,76$; $R^2 = -0,79$; $R^2 = -0,53$ and $R^2 = -0,76$, respectively).

Key words: anatomical structure, tissue degradation, chemical composition, *Bothriochloa pertusa*, *Bouteloua repens*, *Tephrosia cinerea*, *Stylosanthes scabra*, *Desmodium barbatum*.

Recibido: marzo 15 de 2005.
Aceptado: mayo 2 de 2005.

1. Programa Nacional de Fisiología y Nutrición Animal, CORPOICA, C.I. Tibaitatá.
e-mail: dchamorro@corpoica.org.co
2. Departamento de Producción Animal, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

Degradación microbiana *in situ* de tejidos foliares de gramíneas y leguminosas y su relación con indicadores de calidad nutricional

RESUMEN

Para cuantificar la degradación *in situ* de tejidos vegetales y su relación con la composición química de especies forrajeras se seleccionaron láminas foliares de las gramíneas *Bouteloua repens* y *Bothriochloa pertusa* y foliolos de las leguminosas *Stylosanthes scabra*, *Desmodium barbatum* y *Tephrosia cinerea*. En el rumen se incubaron muestras de 10 mm de largo durante 0, 12, 24, 48 y 72 horas; para la lectura del área residual se digitalizaron ocho tejidos. A las 24 y 48 h de incubación *B. pertusa* presentó relaciones positivas entre la degradación de la epidermis adaxial (EA) y la FDN ($R^2 = 90,2$), entre el mesófilo y la DIVMS ($R^2 = 80,1$), y entre los tejidos lentamente degradables (TLD) y la FDA ($R^2 = 83,9$); y relaciones negativas entre EA y DIVMS ($R^2 = -73,1$), los TLD con la DEF ($R^2 = -74,3$), la EA con la PC ($R^2 = -87,6$), y el esclerenquima con la DIVMS y la PC ($R^2 = -84,3$ y $R^2 = -90,8$). Después de 72 horas de incubación las mayores áreas residuales en gramíneas fueron la estructura kranz entre 34,2% y 36,5%, el mesófilo entre 20,9% y 21,4%, el xilema de 11,5% a 17,1% y la EA entre 11,8% y 13,9%; no obstante el esclerenquima se relacionó estrechamente con indicadores de calidad nutricional. Las gramíneas obtuvieron mayores porcentajes de tejidos no degradables que las leguminosas; por lo tanto, la DIVMS y la DEF fueron menores. Entre las leguminosas, *S. scabra*, presentó la mayor digestibilidad de los tejidos rápidamente degradables, tanto en sequía como en lluvia; en la época seca se incrementó en 134,6% la degradación de estos tejidos. Adicionalmente, en esta especie el área residual de los taninos no presentó relación directa con la degradación del mesófilo. En leguminosas la tasa y extensión de la degradación de la epidermis se incrementaron marcadamente a mayor tiempo de incubación, presentándose diferencias entre especies, situación que no exhibieron las gramíneas. En *D. barbatum* la degradación de la EA se asoció con la DIVMS y la DEF, explicando en 77,4% y 72,95% estos porcentajes; de igual manera se reportaron relaciones negativas entre la degradabilidad de la epidermis y los porcentajes de FDN, FDA, lignina y taninos ($R^2 = -0,76$; $R^2 = -0,79$; $R^2 = -0,53$ y $R^2 = -0,76$, respectivamente).

Palabras claves: estructura anatómica, degradación de tejidos, composición química, gramíneas y leguminosas forrajeras, *B. pertusa*, *B. repens*, *T. cinera*, *S. scabra*, *D. barbatum*.

INTRODUCCIÓN

EN LAS PRADERAS del bosque seco tropical de Colombia y de América Latina viene ocurriendo un proceso de colonización espontáneo por la gramínea perenne *Bothriochloa pertusa* (L.), que ha desplazado gramíneas nativas e introducidas. Entre los factores que favorecen la invasión, está su alta producción de estolones y de semillas viables, con una amplia adaptación a condiciones de suelos de baja fertilidad en áreas de escasa precipitación y buena tolerancia al pisoteo, características que la convierten en un gramínea agresiva, razón por la cual, ha sido considerada como maleza. No obstante, estas características están siendo aprovechadas en algunas regiones ganaderas, donde se

ha convertido en una alternativa nutricional bajo condiciones en las que otros pastos con mayor capacidad de producción y palatabilidad no pueden subsistir (Judd, 1965; Oakes, 1968 y 1969; Sierra *et al.*, 1986; Chamorro *et al.*, 1998).

La provisión de energía y proteína de las bacterias ruminales al huésped depende principalmente de la degradación de los tejidos de las plantas forrajeras (Akin *et al.*, 1974). Así, la tasa y extensión de la degradación varía según las proporciones de determinados tejidos, la madurez de las plantas, el engrosamiento y lignificación de las paredes celulares y la presencia de metabolitos secundarios que impiden la acción microbiana (Pond *et al.* 1987; Akin, 1989; Chesson y

Forsberg, 1988; Ventrella *et al.*, 1997 a,b; Wilson, 1993; Alves De Brito *et al.*, 1999).

Las variaciones entre estructuras anatómicas de gramíneas y leguminosas contribuyen a entender las diferencias observadas en la calidad del forraje (Akin y Burdick, 1975). Así, la baja digestibilidad de las gramíneas tropicales C₄ es causada por la estructura anatómica, con diferencias asociadas a las rutas fotosintéticas, una alta proporción de tejido vascular por unidad de área y mayores sitios de lignificación, que unidos a la suberización del mestoma o de la estructura kranz, confiere resistencia a la penetración por los microorganismos ruminales (Hanna *et al.*, 1973; Laetsch, 1974; Akin, 1979).

Las relaciones entre la conformación histológica y el valor nutricional fueron comprobadas por varios autores, entre ellos Wilkins (1972) y Wilson (1976), quienes verificaron la posibilidad de asociar las proporciones de tejidos esclerenquimáticos y vasculares, con la calidad nutricional de especies forrajeras. Para ello, se han tenido en cuenta parámetros como la digestibilidad (Hanna *et al.*, 1973; Akin y Burdick, 1975; Wilson, 1993) la degradación ruminal (Wilson *et al.*, 1991; Lorenzi *et al.*, 1992; Wilson y Hatfield, 1997; Alves De Brito *et al.*, 1999) y la composición química (Ventrella *et al.*, 1997 ab). De esta forma, la caracterización anatómica de las especies forrajeras puede contribuir para mejorar la comprensión de los factores asociados con la digestión de forrajes por los rumiantes.

En general las leguminosas son muy digestibles; Akin (1979) con ensayos de degradación, indica que en las hojas y el tallo, las zonas lignificadas, esclereidas, fibras del floema y el parénquima son los responsables del rompimiento de tejidos, que permite un mayor consumo de las leguminosas que de las gramíneas, sin embargo, los taninos presentes en algunas especies pueden disminuir la degradabilidad de los tejidos reflejado en una menor digestibilidad y consumo de la materia seca (Carulla *et al.*, 1991; Barahona *et al.*, 1997; Lascano, 2004).

La tasa y extensión de la degradación de los tejidos están estrechamente asociados a la disponibilidad de nutrientes en el rumen, por lo cual el empleo de técnicas como la incubación de forrajes en bolsas de nylon en rumen y la incubación de tejidos *in vitro*, permitieron cuantificar los residuos de la degradación microbiana (Akin *et al.*, 1973; Ørskov y McDonald, 1979; Akin *et al.*, 1983; Akin,

1989; Alves De Brito *et al.*, 1999), caracterizando nutricionalmente las especies.

La organización interna de los tejidos, y su degradabilidad ruminal su relación con el tiempo de retención y el consumo voluntario de MS, son un buen indicador de la calidad de los forrajes (Akin y Burdick, 1975; Wilson, 1976; Rodella *et al.* (1984); Ventrella *et al.*, 1997 ab; Alves de Brito *et al.*, 1997 y 1999). Es así, como Akin (1989) y Pond *et al.* (1987) mencionan, que la degradabilidad en las gramíneas, generalmente está asociada con un menor número de células estructurales o con tasas de degradación más rápida, lo cual, puede estar también ligado con tiempos de retención y consumo.

A pesar que *B. pertusa* es una gramínea de gran cobertura en el país y en el mundo tropical, son muy pocos los trabajos realizados con esta especie. Por lo tanto y debido a la importancia de esta gramínea en la actividad ganadera nacional, esta investigación se realizó con el objetivo de conocer la tasa de degradación de los tejidos y analizar sus relaciones con la composición nutricional en épocas contrastantes de precipitación y poder así, contribuir a explicar los resultados divergentes en respuesta animal de esta especie, comparándola con *Bouteloua repens* asociada con las leguminosas *Stylosanthes scabra*, *Desmodium barbatum* y *Tephrosia cinerea* pertenecientes al Valle Cálido del Alto Magdalena en épocas contrastantes de precipitación.

Materiales y métodos

Localización geográfica y animales experimentales. Esta investigación se realizó en el Centro de Investigación Nataima de CORPOICA, ubicado en el Municipio de El Espinal a 425 msnm, temperatura promedio de 28 °C y 1400 mm de precipitación. Para la degradación de los tejidos, se utilizaron dos novillas Cebú fistuladas ruminalmente de una edad promedio de 24 meses, en pastoreo de *B. pertusa*. La recolección de muestras se realizó en cuatro periodos dentro de dos épocas de lluvias y sequía, la época de lluvia comprendió entre los meses de marzo a junio y octubre se presentó una precipitación total de 1494 mm repartidos en 32 días. El periodo de evaluación de sequía estuvo comprendido entre julio y octubre, con una precipitación de 177 mm repartidos en 8 días.

Sitio de recolección: Las especies *Bouteloua repens* (H.B.K.) Scribn y Merr, *Bothriochloa pertusa* (L.) A. Camus, *Stylosanthes scabra* J. Vogel, *Desmodium barbatum* (L)

Benth et Oerts y *Tephrosia cinerea* (L) Pers, fueron recolectadas en los periodos de inicio y final de sequía y lluvia en la hacienda Pacandé, localizada en el municipio de Saldaña con una altura de 420 msnm, temperatura promedio de 28 °C y 1250 mm de precipitación. Las muestras de láminas foliares y foliolos, así como la muestra de forraje para los análisis químicos, se recolectaron del tercio superior de 25 plantas representativas por periodo, provenientes de praderas de *Bouteloua repens* y *Bothriochloa pertusa* con 28 días de descanso, según la metodología planteada por Akin y Robinson (1982).

Degradación ruminal de tejidos. Para los estudios de degradación microbiana, los fragmentos de hojas fueron fijados en campo en una solución FAA (formol 10 ml, ácido acético glacial 5 ml y etanol del 70% 85 ml) (Jensen, 1962). Previo a la incubación ruminal los fragmentos fueron lavados y sumergidos dos días en agua corriente.

Se incubaron cinco fragmentos de 10 mm de lámina foliar de *B. repens* y *B. pertusa* y foliolos de *S. scabra*, *D. barbatum* y *T. cinerea*, colocados en bolsas de nylon en el rumen de 2 novillas Cebú, evaluando cinco tiempos de incubación; 0, 12, 24, 48 y 72 horas, siguiendo la metodología de Ørskov *et al.* (1980). Luego de la degradación ruminal el material fue sometido a procesos de fijación con glutaraldehído al 5% (Twidwell *et al.*, 1991).

Estructura anatómica. Para el estudio anatómico de los fragmentos de forraje, se seleccionaron secciones por duplicado de lámina foliar y foliolo por especie época y tiempo de degradación. Para el procesamiento histológico de muestras de hojas con diferentes tiempos de degradación se utilizaron los protocolos de microtécnica de vegetales del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia (Becerra *et al.*, 2002) y la técnica descrita por Twidwell *et al.* (1991), protocolos que fueron modificados en las fases de deshidratación, inbibición, infiltración, inclusión, y coloración debido a las características de degradación microbiana de las muestras.

Análisis de imágenes. El proceso de análisis de imágenes se realizó en el laboratorio de fisiología del postgrado de la facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia y se cuantificaron los principales componentes de la estructu-

ra anatómica (floema, xilema, mesófilo, hidrénquima, estructura kranz (cubierta de los haces vasculares) epidermis, células buliformes y esclerénquima) utilizando técnicas de microscopía de luz. La técnica de medición y cuantificación de áreas de los tejidos se realizó mediante el empleo del método indirecto de lectura de imágenes, utilizando el morfofisiómetro LECO-2000, la información que fue generada en píxeles se transformó a micras. El área de los cortes transversales de láminas foliares de gramíneas y de foliolos de leguminosas se cuantificó digitalizando la mitad de la hoja partiendo de la nervadura central, analizado entre 4 y 8 campos dependiendo de la especie.

Para realizar el análisis de degradación de tejidos en gramíneas se digitalizaron ocho tejidos: (esclerénquima, xilema, floema, kranz, células buliformes, epidermis adaxial, epidermis abaxial y mesófilo) y en leguminosas se digitalizó esclerénquima, xilema, floema, hidrénquima, epidermis adaxial, epidermis abaxial, taninos y mesófilo. Los porcentajes de tejidos se determinaron a tres replicas por especie forrajera, por época, periodo y tiempo de degradación.

Caracterización química. Para la caracterización química de los materiales se determinó la materia seca (MS), proteína cruda (N x 6.25), cenizas (AOAC, 1975) y para la cuantificación de pared celular y contenidos celulares de las gramíneas y leguminosas, se utilizó el método propuesto por Van Soest *et al.* (1991) determinando fibra en detergente neutro (FDN) y fibra en detergente ácido (FDA). El porcentaje de lignina en las muestras fue determinado por el método descrito por Van Soest y Wine (1968), oxidando la lignina con $KMnO_4$. Para la evaluación de la digestibilidad de la materia seca se utilizó el método *in vitro* de Tilley y Terry (1963). Para el cálculo de la degradabilidad efectiva se utilizó el modelo no lineal descrito por Ørskov y McDonald (1979). Las muestras fueron analizadas en el laboratorio de nutrición animal del C.I. Tibaitatá de CORPOICA.

Análisis estadístico. En el análisis de la estructura anatómica se utilizó un diseño completamente al azar, con igual número de unidades experimentales, donde los tratamientos estuvieron constituidos por el factorial de especies por épocas y periodos de muestreo; además, se realizaron ecuaciones de regresión para evaluar la dependencia que existe entre

la estructura anatómica en función de la composición química y la degradación de tejidos al inicio y final de sequía y lluvia. Cuantificada el área de los tejidos, los datos fueron sometidos al análisis de varianza por SAS (1998). Para las variaciones en la proporciones de tejidos de la lámina foliar y foliolos y las interacciones se utilizó el siguiente modelo:

$$Y_{ijklm} = E_i + P_j + I_k + C_l + EP_{ij} + EI_{ik} + EC_{il} + PI_{jk} + PC_{jl} + IC_{kl} + EPI_{ijk} + EPC_{ijl} + EIC_{ikl} + PIC_{jkl} + EPIC_{ijkl} + e_{ijklm}$$

Y_{ijklm} = valor de m^a observación, de 1^a época, el k^a periodo, de j^a hora, de i^a especie

μ = media general

E_i = efecto de i^a especie, siendo

ANOVA 1, $i = 1, 2, 3$, especies (*D. barbatum*, *S. scabra* y *T. cinerea*); y

ANOVA 2, $i = 1, 2$ especies (*B. pertusa* y *B. repens*).

P_j = efecto de j^a hora de incubación, siendo $j = 1, 2, 3, 4, 5$ (0, 12, 24, 48 y 72)

I_k = efecto del k^a periodo, sendo $k = 1, 2, 3, 4$ (Inicio y final de lluvia y sequía)

C_l = efecto de l^a época, sendo $l = 1, 2$ (lluvia y sequía)

EP_{ij} = interacción de los efectos de i^a especie con la j^a hora

EI_{ik} = interacción de los efectos de i^a especie con el k^a periodo

EC_{il} = interacción de los efectos de i^a especie con la l^a época

PI_{jk} = interacción de los efectos de j^a hora con el k^a periodo

PC_{jl} = interacción de los efectos de j^a hora con la l^a época

IC_{kl} = interacción de los efectos del k^a periodo con la l^a época

EPI_{ijk} = interacción de los efectos de i^a especie con la j^a hora y con el k^a periodo

EPC_{ijl} = interacción de los efectos de i^a especie con la j^a hora y con a l^a época

EIC_{ikl} = interacción de los efectos de i^a especie con el k^a periodo con la l^a época

PIC_{jkl} = interacción de los efectos de j^a hora con el k^a periodo con la l^a época

$EPIC_{ijkl}$ = interacción efectos de i^a especie con j^a hora con la k^a periodo con la l^a época y

e_{ijklm} = error aleatorio asociado a cada observación.

Resultados y discusión

Degradación in situ de tejidos de gramíneas. Los valores de las áreas residuales de tejidos rápidamente degradables, lentamente degradables y no degradables obtenidos después de incubar las láminas foliares de *B. pertusa* y *B. repens* en

bolsas de nylon durante 0, 12, 24, 48 y 72 horas, se presentan en la Tabla 1, así como la composición química se presentan en la Tabla 2 y en las Figuras 1 y 2. Las relaciones que se presentaron entre las degradación de los tejidos e indicadores de calidad nutricional teniendo en cuenta las horas de incubación ruminal se muestran en las Tablas 3 y 4.

Tejidos rápidamente degradables: Estudios histológicos asociados a análisis químicos pueden proveer bases más seguras para explicar las diferencias de digestibilidades entre especies forrajeras (Akin, 1989; Wilson, 1993). El mayor porcentaje de presencia de los tejidos en ésta investigación indica que el tejido no se degradó, permaneció en la lámina foliar y su porcentaje se incrementó dentro del total del área residual. Los tejidos rápidamente degradables están conformados por el mesófilo, floema y células buliformes.

Durante la época de lluvia, las gramíneas presentaron los mayores porcentajes de degradación de los tejidos rápidamente degradables a las 72 horas ($P < 0,01$), con un valor de 74,4% en comparación con 52,7% de la época seca, respuesta acompañada por un incremento en la proporción de carbohidratos estructurales, mayores contenidos de lignina y menor nivel de proteína en las láminas foliares, efectos que han sido referidos por el estrés de las plantas a la sequía (Wilson y Ng, 1975). Tanto en lluvia como en sequía *B. pertusa* presentó la mayor degradación a las 72 horas de estos tejidos ($P < 0,01$), con valores de 77,2% y 55,1%, comparado con los valores obtenidos por *B. repens* de 70,8% y 49,7%. El inicio de las lluvias *B. pertusa* se caracterizó por presentar las mayores degradaciones, con porcentajes del 79,7%.

Es importante resaltar que en la época de sequía a partir de las 48 horas, el floema y las células buliformes se degradaron en más del 90% en *B. repens*, por lo tanto, la baja degradación de los tejidos rápidamente degradables en esta especie en sequía esta ligada específicamente al mesófilo. En los cuatro periodos de evaluación, las menores áreas residuales de estos tejidos a las 48 horas las presentó *B. repens* al inicio de lluvias y sequía con valores de 7,1% y 21,7% de degradabilidad.

Como era de esperarse, la degradación de los tejidos rápidamente degradables en las dos especies, fue mayor a medida que se aumentó en tiempo de

Tabla 1. Promedios de tres grupos de tejidos *B. pertusa* y *B. repens* en cuatro periodos de precipitación contrastantes.

Tratamiento		Bothriochloa pertusa				Bouteloua repens				Fuente de variación									
Época	Periodo	Lluvia		Sequia		Lluvia		Sequia		Especie	Época	Especie * Época	Tiempo	Especie * Tiempo	Época * Tiempo	Periodo (Época)	Especie * Periodo (Época)	Periodo * Tiempo	Especie * Periodo * Tiempo
		Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final										
T. rápida. degradables										%									
0		73.91	75.08	70.65	68.49	58.01	55.80	58.88	54.15										
12		70.97	73.93	62.96	67.64	50.55	52.66	55.12	51.59										
24		71.09	56.14	51.21	62.21	50.41	56.14	55.27	46.52	***	ns	***	***	*	***	***	**	***	***
48		44.37	39.51	44.81	42.08	53.91	40.74	46.13	42.03										
72		14.97	19.05	26.52	35.97	17.97	15.23	38.21	18.64										
T. lentam. degradables										%									
0		12.81	12.16	13.52	13.86	12.10	12.64	11.61	14.51										
12		14.37	12.79	15.66	16.37	15.99	12.89	12.00	14.41										
24		14.67	14.95	21.31	19.54	14.12	11.14	9.58	12.58	***	***	***	ns	***	ns	ns	***	***	ns
48		12.17	17.51	19.94	18.38	15.68	16.89	11.60	10.88										
72		11.79	18.32	27.93	24.31	23.26	32.52	16.26	13.30										
Tejidos no degradables										%									
0		13.28	12.76	15.83	17.65	29.87	31.55	29.50	31.34										
12		14.65	13.28	21.37	14.82	33.46	34.45	32.87	34.00										
24		14.23	28.90	28.54	18.24	35.47	32.72	35.15	40.90	***	***	***	***	***	ns	***	***	***	***
48		43.45	45.37	35.24	39.45	30.39	42.37	42.26	47.08										
72		73.23	62.62	45.54	39.70	58.76	52.25	45.25	68.06										
Área total corte transversal										µ²									
0		2658	2171.8	2154.9	2044.2	1004.5	1113.1	940.7	783.6										
12		2144	2069.0	2516.8	1991.8	1169.2	978.1	846.3	785.7										
24		1638	1197.5	1184.8	1924.4	1275.4	1044.8	765.4	525.0	***	***	***	***	ns	***	***	***	***	***
48		552	1086.7	830.8	1035.4	963.7	656.3	593.6	428.3										
72		249	121.1	654.6	602.0	1631.0	535.2	423.8	322.4										

* = Diferencias significativas (P<0.05); ** = Diferencias altamente significativas (P<0.001); *** = Diferencias altamente significativas (P<0.001); ns= Diferencias no significativas (P>0.05); TRD: Tejidos rápidamente degradables; TLD: Tejidos lentamente degradables; TMD: Tejidos no degradables.

Tabla 2. Composición química de láminas foliares de *B. pertusa* y *B. repens* en cuatro periodos contrastantes de precipitación.

Tratamiento	<i>B. pertusa</i>				<i>B. repens</i>				Fuente de variación				
	Lluvia		Sequía		Lluvia		Sequía		Especie	Época	Especie * Época	Periodo (Época)	Especie * Periodo (Época)
Periodo	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final					
Composición química	(%)												
PC	13.4	9.5	7.1	5.0	14.0	9.5	6.8	4.4	ns	*	*	***	ns
FDN	58.6	61.7	65.9	67.8	62.7	65.2	65.7	67.2	**	***	***	*	ns
FDA	24.9	27.7	28.4	31.5	28.5	28.8	29.4	31.9	*	*	*	*	*
LIGNINA	3.7	3.9	4.0	4.7	3.5	5.4	5.2	5.3	*	*	ns	*	*
DIVMS	73.2	74.4	71.6	67.4	68.1	61.5	51.1	48.3	*	*	*	*	ns
DEF	48.3	41.3	40.1	38.5	37.7	39.2	37.1	28.4	***	***	ns	*	*

* = Diferencias significativas (P<0,05); ** = Diferencias significativas (P<0,01); *** = Diferencias altamente significativas (P<0,001); ns= Diferencias no significativas (P>0,05).

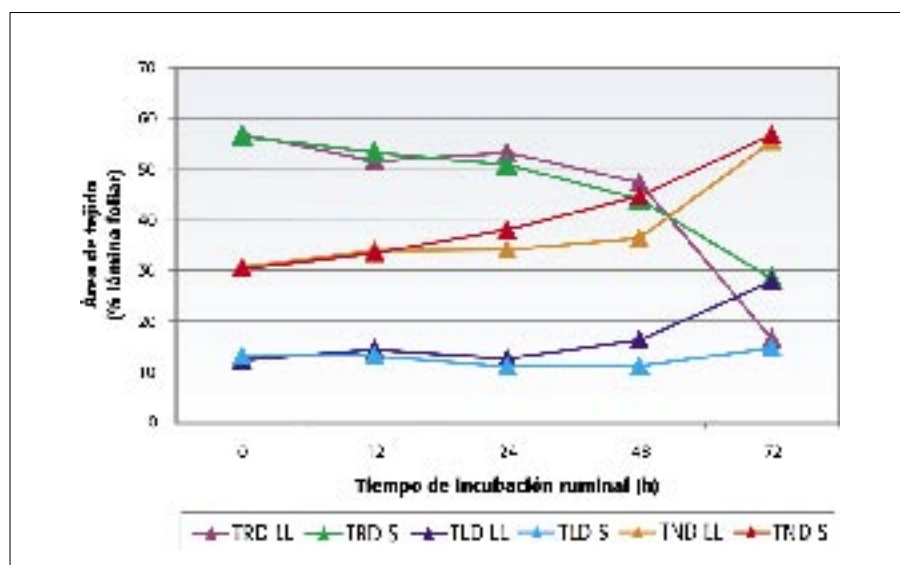


Figura 1. Dinámica de degradación de tejidos de láminas foliares de *B. repens* en cuatro periodos contrastantes de precipitación. TRD: Tejidos rápidamente degradables; TLD: Tejidos lentamente degradables; TND: Tejidos no degradables. LL: Época de lluvia; S: Época de sequía.

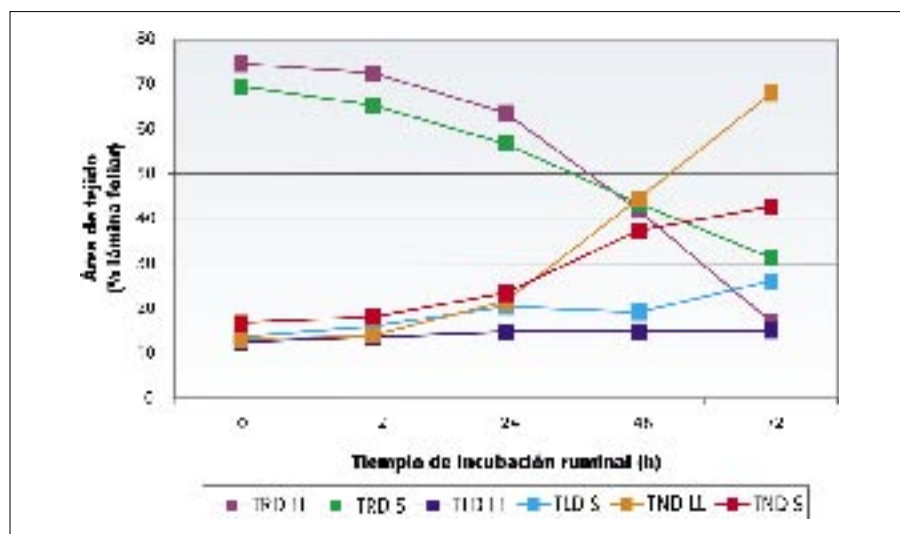


Figura 2. Dinámica de degradación de tejidos de láminas foliares de *B. pertusa* en cuatro periodos contrastantes de precipitación.

incubación (P<0,01), logrando áreas residuales de 60,6%, 56,1%, 44,2% y 23,3% para las 12, 24, 48 y 72 horas respectivamente, esto coincide con lo expuesto por Akin y Rigsby (1985) y Akin (1989), quienes indican, que el mesófilo y el floema de las gramíneas son de rápida degradación por las bacterias ruminales, sin requerir adhesión, por la acción enzimática extracelular. Adicionalmente, las células buliformes y el floema de las especies evaluadas, presentaron paredes celulares delgadas, compuestas por celulosa y pectina lo que facilita su degradación microbiana (Esau, 1985).

Las diferencias encontradas entre las gramíneas experimentales C₄ también puede estar relacionadas con las rutas fotosintéticas a las cuales pertenecen, en este caso, *B. repens* pertenece a la ruta PCK y *B. pertusa* a NADP-ME. Ya que, se ha demostrado que las rutas fotosintéticas están directamente relacionadas con la proporción del mesófilo y la estructura kranz en las hojas (Hattersley y Watson, 1976). Este efecto fue observado en esta investigación, donde *B. pertusa* se destacó por una mayor proporción del mesófilo en los cortes transversales de la lámina foliar con un promedio de 52,26%, comparado con *B. repens*, la cual presentó una área de mesófilo del 34,31%. Este último valor coincide con los reportes de Hattersley y Watson (1976) y Wilson y Hattersley (1989), quienes encontraron un promedio de 39,1%, en seis gramíneas C₄ PCK: *Panicum maximum*, *Panicum virgatum*, *Panicum laevifolium*, *Brachiaria decumbens*, *Chloris gayana* y *Sporobolus fimbriatus*.

En *B. repens* y en *B. pertusa* la degradación del mesófilo estrechamente relacionada a las 24 y 48 horas con la DIVMS, esta define la degradación del mesófilo en un 80,1% y 76,9% respectivamente.

Tabla 3. Relación entre la digestibilidad *in situ* de tejidos a 24-48 horas e indicadores de calidad nutricional en gramíneas.

Tratamiento	Esclerénquima	Xilema	Floema	Krans	Células bulbiformes	Epidermis adaxial	Epidermis abaxial	Mesófilo	Tejidos rápidamente degradables	Tejidos lentamente degradables	Tejidos no degradables	Area total	Degradabilidad efectiva (Def)	Dinsitu	Lignina
B. pertusa	PC	-90,8 **	-36,5 ns	29,0 ns	-33,4 ns	50,0 *	-87,6 **	16,6 ns	64,2 *	-52,0 *	-34,1 ns	49,4 *	47,4 *	-17,9 ns	-66,6 *
	FDN	69,0 *	14,1 ns	-41,8 ns	17,4 ns	-33,6 ns	90,2 **	-3,5 ns	-40,7 ns	62,7 *	19,2 ns	-21,5 ns	36,4 ns	7,1 ns	64,6 *
	FDA	63,9 *	93,7 ns	-27,0 ns	5,2 ns	-20,2 ns	65,6 *	-9,1 ns	-32,3 ns	83,9 **	18,8 ns	-29,0 ns	-93,2 **	-93,2 **	21,1 ns
	LIGNINA	68,8 *	14,5 ns	-17,1 ns	13,7 ns	-15,9 ns	61,7 *	*0,7 ns	-29,2 ns	18,05 ns	12,5 ns	-10,5 ns	-5,7 ns	-0,1 ns	0,0 ns
	DINSITU	8,5 ns	37,4 ns	-35,0 ns	31,7 ns	-41,6 ns	7,9 ns	-76,0 **	-56,0 *	8,3 ns	27,0 ns	-50,1 *	-6,2 ns	-35,4 ns	-52,3 *
	DIVMS	-84,3 **	52,4 *	28,8 ns	-47,8 ns	61,2 *	-73,1 **	36,2 ns	80,1 **	40,5 ns	-39,3 ns	66,3 *	47,7 *	-30,8 ns	-5,7 ns
DEF	-45,4 ns	-7,2 ns	15,7 ns	-2,1 ns	14,8 ns	-44,2 ns	8,6 ns	20,6 ns	17,1 ns	-74,3 **	-18,3 ns	28,0 ns	-30,8 ns	-30,8 ns	-80,0 **
B. Repens	PC	-21,8 ns	-15,2 ns	60,0 *	-25,3 ns	34,9 ns	-43,7 ns	7,1 ns	38,5 ns	-0,6 ns	-37,3 ns	59,7 *	88,2 **	-15,3 ns	75,8 **
	FDN	16,0 ns	11,5 ns	-60,8 *	27,9 ns	-38,0 ns	44,1 ns	-4,0 ns	-36,9 ns	2,0 ns	32,5 ns	-49,8 *	-80,2 **	25,4 ns	91,4 **
	FDA	30,2 ns	21,2 ns	-55,2 *	23,1 ns	-17,8 ns	31,4 ns	-22,1 ns	-33,2 ns	-2,4 ns	44,7 ns	-65,3 *	-80,9 **	5,3 ns	5,4 ns
	LIGNINA	36,5 ns	27,1 ns	-63,2 *	28,2 ns	20,2 ns	36,2 ns	25,6 ns	-0,1 ns	-41,6 ns	-2,8 ns	-51,5 *	-58,2 *	0,8 ns	-3,4 ns
	DINSITU	-8,7	-2,1 ns	-12,5 ns	30,0 ns	-52,3 *	43,5 ns	14,9 ns	26,7 ns	-12,1 ns	45,0 ns	0,5 ns	0,9 ns	49,4 *	-76,8 **
	DIVMS	-17,5 ns	-11,4 ns	42,9 ns	26,9 ns	3,5 ns	13,7 ns	34,5 ns	1,1 ns	15,8 ns	12,6 ns	-32,6 ns	45,9 ns	-2,9 ns	-58,2 *
DEF	-27,0	-16,8 ns	49,7 *	-11,5 ns	20,8 ns	-22,3 ns	4,6 ns	-0,3 ns	31,0 ns	-0,1 ns	-31,8 ns	76,0 *	-2,8 ns	-47,6 *	
Gramíneas	PC	-42,2 ns	-25,9 ns	35,4 ns	-25,9 ns	48,2 *	-68,1 *	8,4 ns	27,7 ns	-21,0 ns	-29,9 ns	42,8 ns	39,9 ns	-11,9 ns	46,5 **
	FDN	13,6 ns	11,2 ns	-25,2 ns	7,3 ns	-45,6 **	55,0 **	0,1 ns	-5,5 ns	24,6 ns	6,7 ns	-8,4 ns	-53,7 *	19,0 ns	39,8 ns
	FDA	17,7 ns	14,4 ns	-15,6 ns	3,0 ns	-24,6 ns	45,6 **	-0,7 ns	-8,6 ns	26,6 ns	6,9 ns	-12,3 ns	-75,1 **	20,5 ns	11,0 ns
	LIGNINA	6,6 ns	21,0 ns	-3,2 ns	9,2 ns	-16,2 ns	59,6 *	4,2 ns	-21,0 ns	26,0 ns	3,0 ns	-2,1 ns	-33,4 ns	7,0 ns	-64,8 **
	DINSITU	-4,6 ns	23,2 ns	-4,8 ns	19,4 ns	-39,9 ns	19,2 ns	0,4 ns	-23,3 ns	27,6 ns	4,9 ns	-8,3 ns	-22,0 ns	-43,8 **	-33,4 ns
	DIVMS	-0,0 ns	-37,3 ns	0,0 ns	-18,3 ns	22,9 ns	-50,2 *	-5,4 ns	40,2 *	50,8 *	-47,8 **	-3,1 ns	6,0 ns	62,4 **	-38,5 ns
DEF	-2,2 ns	-15,4 ns	1,5 ns	-0,9 ns	21,6 ns	-45,1 **	-7,2 ns	10,8 ns	22,2 ns	-65,0 **	-2,5 ns	5,1 ns	-38,5 ns	-33,4 ns	

* = Diferencias significativas (P<0,05); ** = Diferencias altamente significativas (P<0,01); ns = Diferencias no significativas (P>0,05). Promedios en una misma columna con letras iguales no difieren significativamente según la prueba de Tukey (P>0,05). 1. n=8; 2. n=8; 3. B. repens y B. pertusa n=16.

Tabla 4. Relación entre la digestibilidad *in situ* de tejidos a 48-72 horas e indicadores de calidad nutricional en gramíneas.

Tratamiento	Composición química	Esclerenuquina	Xilema	Floema	Kranz	Células bulbiformes	Epidermis adaxial	Epidermis abaxial	Mesófito	Tejidos rápidamente degradables	Tejidos lentamente degradables	Tejidos no degradables	Area total	Degradabilidad efectiva (def)	Dinstu	Lignina
B. pertusa	PC	-12,7 ns	-11,0 ns	45,3 ns	1,9 ns	14,0 ns	-60,57 *	-60,57 *	36,0 ns	-40,3 ns	0,1 ns	21,3 ns	47,4 *	47,4 *	-1,9 ns	-66,6 *
	FDN	15,4 ns	3,1 ns	-61,8 *	0,1 ns	-20,6 ns	59,2 *	59,2 *	-18,5 ns	-24,5 ns	46,5 ns	-1,0 ns	-9,5 ns	36,4 ns	-36,4 ns	64,6 *
	FDA	40,3 ns	0,6 ns	-23,8 ns	-4,3 ns	-0,2 ns	66,2 *	66,2 *	-12,8 ns	-9,8 ns	61,2 *	-0,1 ns	-9,1 ns	-93,2 **	6,9 ns	21,1 ns
	LIGNINA	1,0 ns	4,3 ns	-52,5 *	0,1 ns	-9,2 ns	25,7 ns	25,7 ns	-11,3 ns	-14,2 ns	19,4 ns	-1,6 ns	-2,7 ns	-5,7 ns	0,0 ns	0,0 ns
	DINSITU	55,3 *	36,2 ns	1,1 ns	2,1 ns	0,0 ns	-0,0 ns	-16,2 ns	-9,6 ns	-9,6 ns	6,8 ns	-6,8 ns	-6,2 ns	-6,2 ns	-6,2 ns	0,0 ns
	DIVMS	-15,7 ns	-22,0 ns	31,7 ns	-7,7 ns	21,3 ns	-51,6 *	-51,6 *	52,4 *	52,0 *	-26,6 ns	0,0 ns	0,0 ns	31,0 ns	47,7 *	-8,1 ns
B. repens	DEF	-38,4 ns	-0,1 ns	10,5 ns	6,6 ns	-0,4 ns	-55,8 *	-55,8 *	8,6 ns	5,1 ns	55,6 *	-0,4 ns	7,4 ns	-6,2 ns	-6,2 ns	-5,7 ns
	PC	-30 ns	-20,2 ns	38,0 ns	49,2 *	4,2 ns	0,8 ns	0,8 ns	47,3 *	48,3 *	-4,3 ns	-58,3 *	3,5 ns	88,2 **	0,0 ns	-80,0 **
	FDN	31,3 ns	17,6 ns	-31,6 ns	62,0 *	-11,6 ns	-0,3 ns	-0,3 ns	-55,3 *	-60,7 *	9,7 ns	65,1 *	-1,6 ns	-80,2 **	1,5 ns	75,8 **
	FDA	23,4 ns	28,8 ns	44,8 ns	38,4 ns	-3,7 ns	-6,0 ns	5,5 ns	-30,2 ns	-31,9 ns	-0,0 ns	53,5 *	-10,1 ns	-80,9 **	-2,8 ns	91,4 **
	LIGNINA	10,7 ns	26,2 ns	-23,0 ns	22,7 ns	-4,7 ns	-7,7 ns	3,5 ns	-15,8 ns	-18,3 ns	-0,4 ns	35,0 ns	-14,8 ns	-58,2 *	-3,4 ns	-3,4 ns
	DINSITU	-2,1 ns	-1,5 ns	7,0 ns	10,0 ns	-20,8 ns	48,5 *	34,9 ns	-20,4 ns	-27,7 ns	84,6 **	1,0 ns	2,9 ns	0,8 ns	0,8 ns	-3,4 ns
Gramíneas	DIVMS	-11,3 ns	-31,9 ns	44,4 ns	-33,9 ns	14,4 ns	11,4 ns	-5,5 ns	17,7 ns	24,2 ns	0,5 ns	-46,2 ns	14,5 ns	49,4 *	0,4 ns	-76,8 **
	DEF	37,3 ns	30,0 ns	61,2 *	38,8 ns	-0,4 ns	0,8 ns	-6,8 ns	52,1 *	43,7 ns	-1,5 ns	-59,8 *	5,2 ns	0,8 ns	0,8 ns	-58,2 *
	PC	-11,7 ns	-13,0 ns	16,5 ns	-13,2 ns	9,0 ns	-2,4 ns	-16,9	39,0 ns	41,7 ns	-15,9 ns	-6,3 ns	7,6 ns	39,9 ns	-0,2 ns	-47,6 *
	FDN	6,8 ns	14,6 ns	-1,4 ns	16,5 ns	-8,0 ns	0,7 ns	13,9 ns	-43,7 *	-43,8 *	17,2 ns	7,1 ns	-2,5 ns	-53,7 *	7,1 ns	46,5 **
	FDA	3,2 ns	18,2 ns	0,0 ns	4,4 ns	0,3 ns	-0,1 ns	2,5 ns	25,2 ns	-21,0 ns	6,3 ns	4,8 ns	-8,2 ns	-75,1 **	5,0 ns	39,8 ns
	LIGNINA	-3,3 ns	17,3 ns	0,1 ns	0,8 ns	-1,1 ns	0,6 ns	-0,0 ns	-10,8 ns	-10,0 ns	5,8 ns	-0,9 ns	-3,1 ns	-33,4 ns	11,0 ns	11,0 ns
DINSITU	-14,8 ns	14,8 ns	36,4 ns	1,4 ns	-0,3 ns	17,0 ns	0,1 ns	-15,7 ns	-11,4	17,1 ns	-0,3 ns	-0,0 ns	-22,0 ns	-22,0 ns	11,0 ns	
DIVMS	10,3 ns	-29,4 ns	-11,8 ns	-2,4 ns	0,8 ns	-2,2 ns	16,9 ns	13,7 ns	13,7 ns	-6,6 ns	1,5 ns	1,5 ns	5,5 ns	62,4 **	-36,2 ns	-64,8 **
DEF	0,0 ns	-17,5 ns	-5,8 ns	-0,2 ns	-3,0 ns	-2,2 ns	-2,2 ns	-0,1 ns	23,5 ns	13,8 ns	-14,2 ns	-0,9 ns	3,2 ns	-22,0 ns	-22,0 ns	-33,4 ns

x= Diferencias significativas (P<0,05); x= Diferencias altamente significativas (P<0,01); ns= Diferencias no significativas (P>0,05). Promedios en una misma columna con letras iguales no difieren significativamente según la prueba de Tukey (P> 0,05). 1: n=8; 2: n=8; 3: B. repens y B. pertusa n=16.

Adicionalmente, Wilson y Hattersley (1989) y Wilson. (1993), comparando seis gramíneas C₄ NADP-ME: *P. antidolate*, *P. bulbosum*, *P. obtusum*, *C. ciliaris*, *H. conturtus* y *H. hirta*, reportaron un valor promedio del mesófilo del 44% y del 48,3% para el género *Panicum*, porcentajes similares a los encontrados en *B. pertusa*. En ésta especie se halló una relación entre la degradación del mesófilo a las 48 y 72 horas con la degradabilidad efectiva, la cual explica la degradación del mesófilo en un 52,1% (P<0,01).

Existe una relación negativa entre el contenido de FDN con la degradación de los tejidos rápidamente degradables, estos se explican en un 60,7% por el porcentaje de FDN.

Las áreas residuales del mesófilo tanto en *B. pertusa* como en *B. repens* después de 72 horas de incubación ruminal, presentaron un promedio entre 20,9% y 21,4% respectivamente, residuos posiblemente asociados a la presencia de compuestos químicos probablemente fenoles, que han sido reportados en el mesófilo de láminas foliares de otras gramíneas C₄ (Akin et al., 1977). Adicionalmente, el efecto generado por el estrés hídrico aunado a altas temperaturas genera un aumento de los compuestos fenolicos (Akin, 1989, Lascano, 2004), lo que probablemente incrementó el área residual en 9.7 y 11.9 unidades porcentuales para *B. pertusa* y *B. repens* respectivamente, características que explican posiblemente las degradabilidades de materia seca en estas especies.

Los tejidos rápidamente degradables de *B. pertusa* a las 48 y 72 horas de incubación se degradaron en un 21,3% y 6,2% superior al logrado por *B. repens* (P<0,01). Este comportamiento posiblemente estuvo relacionado con mayores porcentajes de proteína, DIVMS y DEG de las láminas foliares de *B. pertusa*, respuesta que coincide con lo observado en otras gramíneas (Wilson y Kennedy, 1996), por lo tanto, el análisis del área y la degradación de estos tejidos son importantes para entender las diferencias de calidad nutricional entre estas gramíneas.

Tejidos lentamente degradables: Estos tejidos conformados por las epidermis adaxial y abaxial, incrementan su área residual a medida que avanza el tiempo de degradación ruminal, en *B. pertusa* y *B. repens* la degradación de los tejidos lentamente degradables exhiben un comportamiento diferente.

La mayor degradación de los tejidos lentamente degradables a las 48 horas,

la presentó *B. repens* durante los cuatro periodos de evaluación, con una área residual de 13,7%, comparado con 17% alcanzado por *B. pertusa* (P<0,01). Situación que no se exhibió a las 72 horas, donde *B. pertusa* consiguió la mayor degradación, con un área residual de 20,5% (P<0,01). En la época de lluvia durante las 48 y 72 horas de incubación *B. pertusa* exhibió la mayor degradación (P<0,01), con valores de áreas residuales de 14,8% y 15,0% respectivamente.

B. repens mostró mayor variabilidad en la degradación de los tejidos lentamente degradables, es así como al final de sequía a las 48 horas presentó la menor área residual (10,8%) (P<0,01) y el menor valor lo alcanzó al final de lluvias con una área residual de 32,5%.

Las menores áreas residuales en la época de lluvia a las 48 y 72 horas de incubación, se observaron en *B. pertusa*, con valores promedios de 12,1%, 11,7%, 17,5% y 18,3% al inicio y final de lluvias respectivamente, situación contraria sucedió en sequía donde las menores áreas residuales a las 48 y 72 horas de incubación, los presentó *B. repens*, con valores promedios de 11,6%, 16,2%, 10,8% y 13,3% al inicio y final de sequía respectivamente, respuesta asociada posiblemente a la característica xeromórficas mas marcadas de *B. pertusa* que le permite en ausencia de agua formar en la epidermis adaxial paredes mas gruesas, con presencia de cutículas gruesas, esta respuesta de la gramínea posiblemente dificulta el paso del agua (Fahn, 1985 y Johnson, 1989). La variabilidad morfológica de las epidermis de las gramíneas se usa a menudo para su determinación taxonómica y también en el estudio de su evolución (Metcalf, 1972 y 1950; Esau 1985).

Es importante anotar que la conformación anatómica de las epidermis de las dos especies difieren notoriamente. En *B. pertusa* las células de la epidermis adaxial son de mayor tamaño que en la epidermis abaxial y se encuentran fuertemente ligadas a los haces vasculares por el esclerenquima, situación que puede dificultar la disminución del tamaño de partícula por masticación y su degradación microbiana. (Akin y Benner 1988; Pond et al., 1987 y Wilson y Hattersley, 1989), excepto para algunos hongos que tienen su acción física y química sobre estos tejidos (Joblin y Naylor 1989). En *B. repens* las epidermis adaxial y abaxial aunque conformadas por células pequeñas, presentan una capa gruesa de cutina y en algunos sectores son células ligni-

ficadas y fuertemente unidas al esclerenquima, situación reportada en otras gramíneas C₄ y que limita seriamente la degradación por los microorganismos ruminales (Fahn, 1985; Chesson et al., 1986, Twidwell et al., 199; Reed, 1994).

Las epidermis abaxial y adaxial presentaron un patrón diferente de degradación, es así como en *B. pertusa* solo la epidermis abaxial presentó degradación con un valor bajo de 13,2% al inicio de lluvias a las 72 horas de incubación. La epidermis de las gramíneas están conformadas por células largas y dos tipos de células cortas, células silíceas y suberosos. Las silíceas están casi completamente llenas de SiO₂ que se solidifican en cuerpos de diferentes formas. Las suberosas tienen suberificadas las membranas y están también silificadas (Esau, 1985), características posiblemente asociadas a la relación que se presentó en *B. pertusa* entre la epidermis adaxial y el FDN y el FDA con un R²=0,90 y R²=0,66 (P<0,01).

El ligero incremento en las áreas residuales a las 48 horas de incubación de *B. pertusa* con respecto a *B. repens*, posiblemente este asociado con la ruta fotosintética, según lo reportado por (Wilson y Hattersley, 1989 y Wilson et al., 1983) quienes encontraron un incremento del 10,5% para seis gramíneas C₄ NADP-ME y en un 3,1% para las especies del género *Panicum*, con relación a seis gramíneas de la ruta PCK, lo cual concuerda con los resultados de esta investigación.

Los tejidos lentamente degradables en *B. repens* a las 24 y 48 horas presentaron una relación inversa con la DEF con un R² =-0,743 (P<0,01), de igual manera estos tejidos presentaron una estrecha relación con el FDA definiendo en un 83,9% el área residual de estos tejidos. La epidermis adaxial influyó negativamente sobre la DIVMS de las dos gramíneas y en particular en *B. repens* con un R²=-0,50 (P<0,01) y R²=-0,73 (P<0,01) respectivamente, efecto asociado a los mayores porcentajes de FDN alcanzado en las láminas foliares el cual explica en un 90,2% las áreas residuales de la epidermis adaxial (P<0,01). Es importante anotar que las áreas residuales de la epidermis adaxial se incrementaron en 9.7 unidades porcentuales en *B. pertusa* por efecto de la menor precipitación.

Tejidos no degradables: Los áreas residuales de los tejidos no degradables conformados por el esclerenquima, xilema y la estructura kranz, presentaron un comportamiento contrastante para las dos especies, es así, como durante los

periodos inicio y final de lluvia las áreas fueron menores ($P<0,01$) en *B. repens*, con valores de 30,39% y 58,76%, a las 48 horas y de 42,37% y 52,25% para las 72 horas ($P<0,01$). Situación contraria a se presentó al inicio y final de sequía donde *B. pertusa* logró las menores áreas residuales, con valores de 35,24%, 45,54%, 39,45% y 39,70%. ($P<0,01$).

En la especie *B. pertusa* las áreas de los tejidos no degradables en la época de lluvia, se incrementaron en un 25% a las 72 horas ($P<0,01$), situación que no se presentó en *B. repens* en la cual los valores se mantuvieron altos en las dos épocas (55,50% y 56,65%), respuestas posiblemente asociadas con diferencias químicas especialmente en contenidos de polisacáridos estructurales lignificados, estos tejidos presentaron una relación estrecha con el FDN y el FDA, explicándolos en un 62,7% y un 83,9% a las 24 y 48 horas de incubación *in situ*, respuesta relacionada a la presencia de paredes celulares engrosadas y altamente lignificadas (Akin, 1989; Wilson, 1993), que restringen la acción microbiana y se reflejó en una relación negativa entre la digestibilidad *in situ*, con el contenido de FDA, $R^2=0,93$ ($P<0,01$), resultados que concuerdan con los reportes de Wilkins (1972); Wilson (1976); Rodella *et al.* (1984) y Weimer (1996).

Mención especial merece la estructura kranz, la cual en *B. repens* y *B. pertusa* puede llegar a ocupar más del 40% del área residual a las 72 horas, en *B. repens* las paredes celulares de este tejido son mucho más gruesas y lignificadas que en *B. pertusa*, convirtiéndose en una verdadera caja fuerte que protege nutrientes de alta digestibilidad de la acción microbiana, ocasionando baja disponibilidad de energía y proteína para el rumiante, por lo tanto, la accequibilidad por los microorganismos ruminales a los carbohidratos estructurales de la pared celular y a los contenidos celulares en las gramíneas C_4 PCK, es limitada, no solamente por la composición química de la pared celular, sino también por el arreglo estructural de los tejidos en las láminas foliares, observaciones que coinciden con los reportes de Wilson y Mertens (1995).

Es de anotar que la influencia del estrés de las gramíneas por baja disponibilidad de agua, influyó marcadamente en las áreas residuales de la estructura kranz en *B. pertusa*, incrementando su área entre 91,17% y 223,36%, en comparación con el incremento en la época de lluvia, el cual fue entre 398,9% y 697,1%,

efecto asociado a los altos porcentajes de este tejido que en la época seca, que mantienen en las láminas foliares durante el proceso de incubación ruminal. Observaciones que concuerdan con los reportes de Wilson y Hattersley (1989) quienes describen que las gramíneas C_4 NADP-ME, presentan menores áreas en la estructura kranz con promedios de 15%, valores que coinciden con los promedios obtenidos por *B. pertusa* (8,21%), en comparación con el área del kranz en las gramíneas C_4 de la ruta PCK, las cuales, presentaron un promedio de 24%, valor equivalente al reportado por *B. repens* (19,6%) y que asociado a la presencia de mestoma en estas especies disminuyen marcadamente la degradabilidad de las láminas foliares.

En *B. repens* el esclerenquima está altamente relacionado negativamente con la DIVMS y la proteína a las 24 y 48 horas de incubación, con un $R^2=84,3$ y $R^2=90,8$ ($P<0,01$). Resultados que concuerdan con los reportes de Akin y Burdick (1973); Wilson (1983); Wilson y Hattersley (1989); Ventrella *et al.* (1997 a,b); Alves De Brito *et al.* (1999) y Queiroz *et al.* (2000) quienes afirman que generalmente los bajos valores de DIVMS son consistentes a altos contenidos de pared celular y porcentajes de esclerenquima. Este tejido está constituido por células que, junto a la pared primaria celulósica, desarrollan una pared secundaria muy engrosada y endurecida por la lignificación (Fahn, 1985, Paniagua *et al.*, 1997).

Degradación in situ de tejidos en leguminosas. Los valores de las áreas residuales

de tejidos rápidamente degradables, lentamente degradables y no degradables en cinco tiempos de degradación *in situ*, de las leguminosas experimentales así como la composición química se presentan en la en las Tablas 5 y 6 y Figuras 3, 4 y 5.

Tejidos rápidamente degradables: Las especies que presentaron mayor digestibilidad *in situ* de tejidos rápidamente degradables fueron *S. scabra* con 67,6% y *T. cinerea* con 62,8% ($P<0,001$) que superaron los promedios de *D. barbatum* con 29,4%, es de anotar que la especie *T. cinerea* presentó la mayor área de tejidos rápidamente degradables (78,56%).

Aunque no se presentaron diferencias entre épocas, en la interacción especie época se observó que al inicio de lluvias y al final de sequía, *S. scabra* presentó las mayores digestibilidades a las 72 horas (79,3% y 77%), superando a los demás especies ($P<0,01$). Tanto en la época de lluvia y sequía *S. scabra* presentó los mayores valores de degradación con 70,4% y 65,1% ($P<0,01$). Es de anotar que la especie *D. barbatum* aunque presentó mayores áreas de tejidos rápidamente degradables (72,7%), no logró la tasa y extensión de degradación que las demás especies, efecto directamente asociado a mayores porcentajes de lignina y taninos los cuales se encuentran en un promedio del 6,6% del área total del foliolo.

Las células del floema y del hidrénquima en las especies *S. scabra* y *T. cinerea* y del hidrénquima en *S. scabra* se degradaron totalmente entre las 24 y 48 horas de incubación *in situ*, resultados que coinciden con lo planteado por Akin (1989) y Chesson *et al.* (1986).

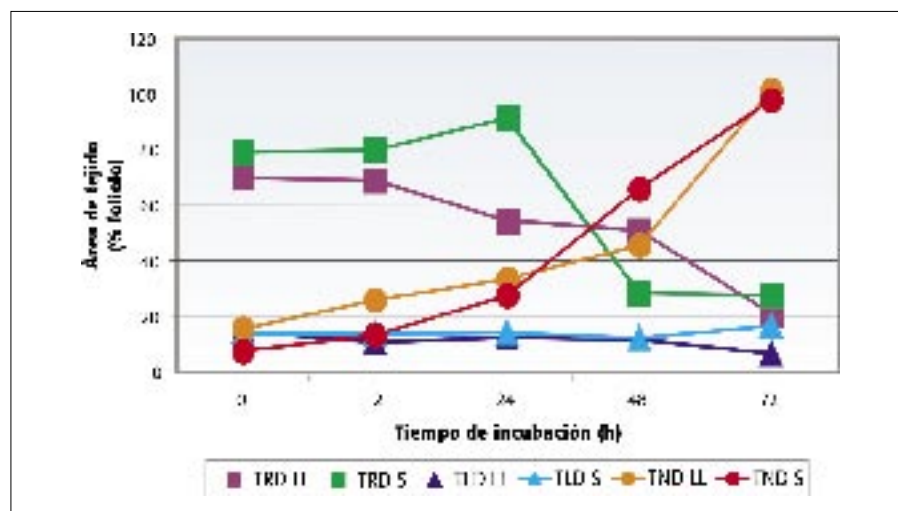
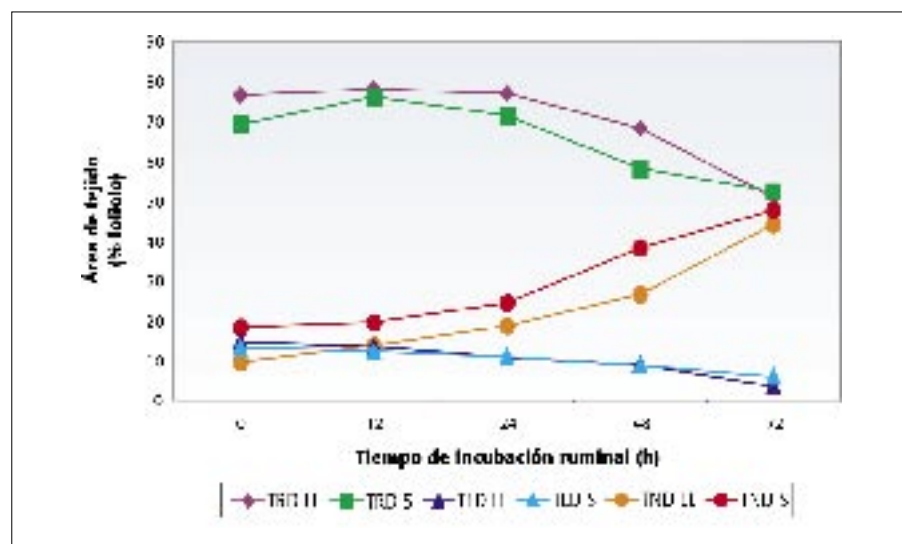
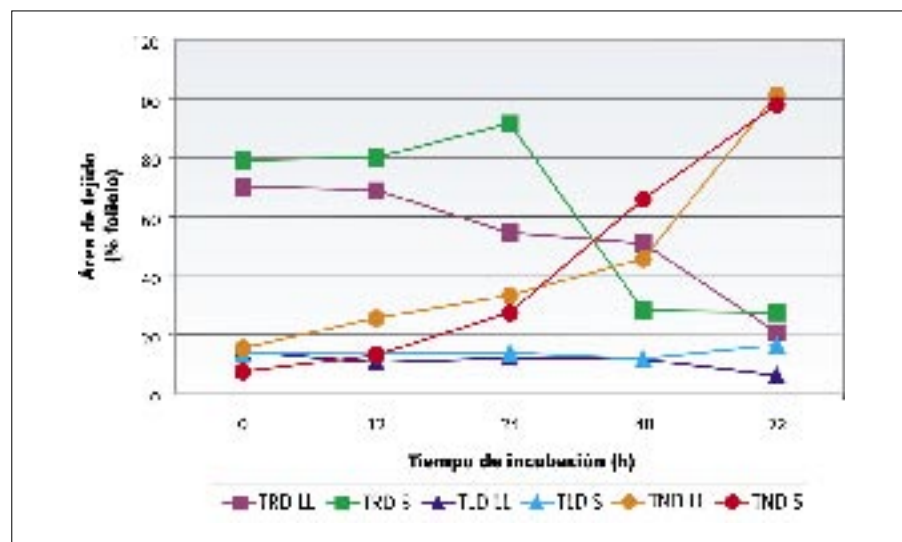


Figura 3. Dinámica de degradación de tejidos de *D. barbatum*. TRD: Tejidos rápidamente degradables; TLD: Tejidos lentamente degradables; TND: Tejidos no degradables. LL: Época de lluvia; S: Época de sequía.

Tabla 5. Composición nutricional de foliolos de *D. barbatum*, *S. scabra* y *T. cinerea* en cuatro periodos contrastantes de precipitación.

Tratamiento	<i>D. barbatum</i>				<i>S. scabra</i>				<i>T. cinerea</i>				Especie	Época	Especie * Época	Periodo (Época)	Especie * Periodo (Época)
	Lluvia		Sequía		Lluvia		Sequía		Lluvia		Sequía						
Periodo	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final					
Composición química	%																
PC	13.4	12.3	12.2	12.1	16	16.6	18.7	15.8	24.0	20.1	19.2	18.6	***	***	***	***	***
FDN	34.9	37.8	35.2	44.5	28.4	31.3	27.3	33.4	28.0	31	31.6	33.9	***	***	***	***	***
FDA	24.5	29.87	26.9	33.0	19.9	19.1	20.6	29.4	18.8	17.8	20.4	21.9	***	***	***	***	***
LIGNINA	7.6	10.62	8.0	10.4	6.6	5.8	6.6	6.7	5.45	5.5	6.4	7.1	***	***	***	***	***
DIVMS	86.2	71.86	75.4	66.1	80.9	69.2	75.8	65.7	82.3	80.7	81	74.7	***	***	***	***	***
DEF	54.6	44.91	44.3	38.8	55.5	40.7	47.0	34.6	61.4	50.4	53.6	43.9	***	***	***	*	ns

*= Diferencias significativas ($P<0,05$); **= Diferencias significativas ($P<0,01$); ***= Diferencias altamente significativas ($P<0,001$); ns= Diferencias no significativas ($P>0,05$)
DEF: degradabilidad efectiva.

**Figura 4.** Dinámica de degradación de tejidos de *T. cinerea*.**Figura 5.** Dinámica de degradación de tejidos de *S. scabra*.

Es de destacar el incremento del 134,6% en la degradación en la época de sequía de *S. scabra* comparando con la época lluvia a las 48 horas de incubación, efecto posiblemente asociado al incremento de nitrógeno en los folíolos (5,67%), respuestas contradictorias del patrón normal de las leguminosas forrajeras, sin embargo, concuerdan con los reportes de The Late *et al.* (1994) en *Stylosanthes* y Gifford y Jensen (1967) y Walgenbach *et al.* (1981) en otras leguminosas, aunque discrepan con los reportes de Vough y Marten (1971) y Wilson (1983). Adicionalmente, *S. scabra* incrementó en un 11,41% el área de estos tejidos en la época de sequía, característica que posiblemente influyó en la mayor degradación *in situ*.

Por lo anterior, en esta investigación las leguminosas, no presentaron una relación constante entre la degradación de los tejidos rápidamente degradables y la precipitación, en algunas especies se incrementó la degradación a las 72 horas en un rango del 3% al 60% con la disponibilidad de agua.

Se ha planteado que en las hojas de leguminosas el mesófilo es potencial y extensivamente degradable (Akin y Robinson, 1982; Wilson, 1993), pero que algunas especies por la presencia de metabolitos secundarios especialmente taninos se reduce la digestibilidad del mesófilo (Fay *et al.*, 1981; Lees, 1984). En esta investigación la degradación del mesófilo conformado por el parénquima de empalizada y el esponjoso fue superior ($P<0,01$), a las 72 horas con valores de 83,0%, 59,2% y 27,8%

Tabla 6. Promedios de tres grupos de tejidos de *D. barbatum*, *S. scabra* y *T. cinerea* en cuatro periodos de precipitación contrastantes.

Tratamiento	D. barbatum				S. scabra				T. cinerea				Fuente de variación															
	Lluvia		Sequia		Lluvia		Sequia		Lluvia		Sequia		Lluvia		Sequia		Espece	Epoca	Espece * Epoca	Tiempo	Espece * Tiempo	Epoca * Tiempo	Espece * Epoca * Tiempo	Periodo (Epoca)	Espece * Periodo	Periodo * Tiempo	Espece * Periodo * Tiempo	Espe * Perio * Tem (Epoca)
Tejidos rápidamente degradables	%																											
	0	76.8	75.8	68.6	69.4	65.8	74.2	78.7	79.3	82.0	81.0	78.5	72.5	***	ns	**	***	***	***	***	***	**	***	***	***	***	***	ns
	12	79.1	76.5	78.0	73.7	60.7	77.1	81.4	78.3	80.4	81.8	83.4	72.5															
	24	74.1	79.5	74.0	68.5	42.1	66.6	81.9	70.1	61.0	78.6	70.9	73.1															
	48	63.6	72.3	57.6	58.3	41.6	60.1	30.3	26.3	50.1	40.7	50.7	40.8															
	72	59.6	41.6	44.1	59.8	13.6	27.8	36.9	18.2	28.6	27.2	32.9	28.2															
Tejidos lentamente degradables	(%)																											
	0	14.0	14.7	12.7	13.0	15.6	13.2	14.3	12.6	13.4	14.4	16.4	17.1															
	12	13.6	12.8	12.4	11.7	9.4	11.4	14.0	13.1	3.8	7.7	6.7	7.5															
	24	11.7	9.1	11.1	10.1	14.1	10.2	16.8	10.7	4.0	5.9	6.1	7.3															
	48	12.0	5.2	7.9	8.9	13.7	9.4	11.2	12.3	0.0	4.8	6.4	7.0															
	72	3.8	2.4	5.5	5.5	5.6	6.7	19.2	13.7	0.0	3.9	2.1	6.0															
Tejidos no degradables	%																											
	0	9.1	9.4	18.5	17.4	18.5	12.4	6.8	7.9	4.5	4.4	4.9	10.3															
	12	14.9	12.1	19.5	19.0	34.9	16.5	13.0	13.0	8.5	12.1	10.9	14.0															
	24	18.9	17.8	18.4	29.9	46.1	20.4	34.1	20.7	22.6	8.1	14.2	13.6															
	48	27.5	24.9	37.5	38.3	50.9	40.3	62.9	68.7	39.2	34.8	31.1	38.5															
	72	34.0	54.0	54.0	40.8	78.4	74.2	83.9	82.0	61.0	62.3	45.3	46.5															
Área	μ²																											
	0	9834	6068	3903	4641	663	1325	1006	968	2600	1784	1728	1601															
	12	3030	5586	4120	3896	2930	1537	1675	1737	1560	1095	1167	1460															
	24	1895	3945	3870	3314	1803	1380	2307	1471	858	1229	1147	1270															
	48	4403	2482	2484	2463	4403	1055	320	327	536	919	529	458															
	72	1582	1546	890	2310	1506	489	503	329	319	290	282	453															

*=Diferencias significativas (P<0.05); **=Diferencias altamente significativas (P<0.01); ***=Diferencias altamente significativas (P<0.001); ns= Diferencias no significativas (P>0.05)
TRD: Tejidos rápidamente degradables; TLD: Tejidos lentamente degradables; TND: Tejidos no degradables

para *S. scabra*, *T. cinerea* y *D. barbatum* respectivamente, las células en el área residual del mesófilo posiblemente estén asociados con la presencia de polifenoles, especialmente en *D. barbatum* y *S. scabra*, en las cuales los taninos a las 72 horas representaron del 11,94% al 64,32% del área total residual en las dos especies respectivamente, esta variación, concuerda con lo reportado por Lascano (2004), quien plantea que los efectos positivos y negativos de los taninos condensados de las leguminosas, están relacionados con su concentración y pueden variar entre especies.

Sin embargo, la especie *S. scabra* a pesar de tener la mayor área residual en taninos, presentó la mayor digestibilidad del mesófilo, relacionada íntimamente con la digestibilidad *in situ* de la MS $R^2=0,92$ ($P<0,01$), probablemente los taninos presentes en estas leguminosas limitan en diferente magnitud la degradación *in situ* del mesófilo.

En todas las leguminosas en especial en *S. scabra* la degradación del mesófilo, es altamente relacionada con la digestibilidad *in situ* de la MS y las expresas en un 78,6% y 92,3% ($P<0,01$), resultados que concuerdan con los reportes de Wilson (1993). De igual manera, los tejidos rápidamente degradables en *D. barbatum* presentaron una relación estrecha con la DIVMS y la DEF explicándolas en un 77,4% y 72,9% ($P<0,01$) respectivamente. Las relaciones que se presentaron en la degradación *in situ* de los tejidos e indicadores de calidad se presentan en las Tablas 7 y 8.

Tejidos lentamente degradables: Se observó que la interacción especie por periodo dentro de época, influyó en forma significativa ($P<0,01$) en la degradación de los tejidos lentamente degradables. La especie con mayor degradación a las 48 y 72 horas fue *T. cinerea* con 70,3% y 80,4% ($P<0,01$). Estos resultados están posiblemente asociados al incremento del 20,51% del área de tejidos lentamente degradables en la época de sequía.

La epidermis adaxial en *T. cinerea*, presentó total degradación a las 12 horas de incubación al inicio de las lluvias y la epidermis abaxial a las 24 horas, superando ($P<0,01$) a los valores obtenidos por *D. barbatum* en la cual, la epidermis abaxial y adaxial presentaron similares degradaciones, situación opuesta la exhibió *S. scabra* especie en la cual la epidermis abaxial obtuvo la mayor degradación al final de lluvia 85,7%. Por lo anterior, la cutícula que recubre principalmente la epidermis

adaxial no influyó en la degradación de este tejido, lo cual concuerda con los reportes de Fay *et al.* (1981).

En esta investigación se encontró una relación directa entre la humedad del suelo y la degradación *in situ* de las epidermis, es así como en la época de lluvias se observaron las mayores degradaciones ($P<0,001$) con promedios de 73,7%, disminuyendo en 34.13 unidades porcentuales la degradación en sequía. *T. cinerea* al inicio de lluvias y a las 24 horas, presentó una degradación del 70,1% y a las 48 horas el total de las epidermis fue degradada.

La digestibilidad *in situ* de los tejidos lentamente degradables, se incrementó ($P<0,001$), con mayores tiempos de incubación en el rumen; a las 72 horas se obtuvo una área residual promedio de 6,24%, superando a todos los demás tiempos de degradación, de igual manera el valor reportado a las 48 horas superó a los promedios de las 24 y 12 horas de incubación, en estas horas se presentó igualdad estadística con áreas residuales de 9,80% y 10,38% respectivamente.

En *D. barbatum* se presentaron relaciones negativas entre la degradabilidad de las epidermis y el porcentaje de FDN, FDA y la lignina con un $R^2=-0,76$; $R^2=-0,79$ y $R^2=-0,53$ respectivamente; de igual manera, se reportó relaciones positivas importantes con la DIVMS y la DEF, la degradación de las epidermis a las 24 y 48 horas explican en un 77,4% y 72,9% el porcentaje de la DIVMS y de la DEF. En la especie *S. scabra* se presentó una relación positiva entre los tejidos lentamente degradables con la lignina y el FDA, explicándolos en 60,2% y 61,6% ($P<0,05$).

Tejidos no degradables: Las menores áreas residuales a las 48 y 72 horas de incubación, las presentaron *D. barbatum* y *T. cinerea* con valores de 32,05%, 45,70% y 35,9%, 53,78% respectivamente ($P<0,01$). *D. barbatum* presentó las menores áreas a las 48 y 72 horas en lluvia y final de sequía con 34, 54 y 40,8% respectivamente.

El área residual de los tejidos no degradables, fue mayor a medida que se incrementó el tiempo de acción microbiana en el rumen, la mayor área se presentó a las 72 horas con 88,55% superando a todos los demás tiempos de incubación ruminal ($P<0,01$). De igual forma los porcentajes de incubación a las 24 horas (33,10%) y a las 12 horas (23,55%), fueron superados por el área residual a las 48 horas (61,83%) ($P<0,01$).

Las menores áreas residuales del esclerenquima a las 48 horas las pre-

sentó *S. scabra* con valores de 8,02%, 6,89%, 15,53% y 17,1% para inicio lluvia y final de sequía respectivamente. De igual manera, a las 72 horas esta especie presentó las menores áreas residuales de esclerenquima al inicio de lluvia y final de sequía ($P<0,01$). En lluvia se presentaron en *S. scabra* los menores porcentajes de áreas residuales de xilema (3,33% y 6,24%); al inicio y final de sequía *D. barbatum* y *S. scabra* obtuvieron los menores valores comparados con *T. cinerea* especie que se caracterizó por presentar los mayores valores de áreas residuales en todos los periodos de evaluación.

En las áreas residuales correspondientes a los taninos *S. scabra* presentó los mayores ($P<0,01$) valores durante todos los periodos y horas de incubación evaluados. Con relación al porcentaje de taninos en las leguminosas tropicales, Barahona *et al.*, (1997) demostró el efecto negativo de los taninos sobre el valor nutritivo de *Desmodium ovalifolium* y se ha planteado que la actividad de los taninos depende de varios factores como son el peso molecular, su composición monomérica, su origen químico y variables medioambientales (Barahona y Ávila, 2004, Carulla y Pabón, 2004; Lascano, 2004).

En *D. barbatum* y *T. cinerea* el área residual de taninos a las 72 horas fue mayor en la época seca, posiblemente el efecto del estrés a la temperatura y la menor humedad del suelo incrementaron el porcentaje de taninos, observaciones que coinciden con lo planteado por Anaruga *et al.* (1993), citado por Lascano (2004). Las áreas residuales de los taninos en *D. barbatum* a las 24 y 48 horas presentaron una relación negativa con la DIVMS y la DEF, expresándolas en un 66,6% y 58,1%. De igual manera en *T. cinerea* se presentó una relación negativa con la DEF, con un $R^2 = -0,76\%$.

Las áreas promedio del esclerenquima en *S. scabra* presentaron estrecha relación con la lignina y la define en un 86,1% ($P<0,01$), respuesta asociada a que el esclerenquima es un tejido compuesto por las esclereidas con paredes celulares secundarias y lignificadas. De la misma manera, *D. barbatum* y *S. scabra* presentaron una relación positiva con el FDA, y lo expresan en un 68,3% y 75,8% ($P<0,01$).

Los porcentajes de DIVMS y la DEF, estuvieron negativamente asociados en un 70,2% y 81,3% por las áreas residuales del esclerenquima en *D. barbatum* a las 48 y 72 horas.

Tabla 7. Relaciones entre la degradación *in situ* de tejidos a las 24-48 horas e indicadores de calidad nutricional de leguminosas.

Especies	Composición química	Leguminosas										Lignina				
		Esclerénquima	Xilema	Floema	Hidrenquima	Epilaba	Epilada	Taninos	Mesófilo	Tejidos lentamente degradables	Tejidos rápidamente degradables		Tejidos no degradables	Area total	Degradabilidad efectiva (def)	Dinsitu
<i>D. barbatum</i>	PC	-43,3 ns	-19,7 ns	7,6 ns	19,0 ns	4,4 ns	0,4 ns	-31,7 ns	40,5 ns	-41,5 ns	3,5 ns	-41,5 ns	0,0 ns	85,9 **	38,0 ns	-38,7 ns
	FDN	72,0 **	62,2 *	-10,7 ns	0,0 ns	-18,5 ns	-3,0 ns	63,4 *	-60,2 *	-76,1 **	-16,3 ns	-76,1 **	-14,0 ns	-59,7 *	-9,3 ns	56,3 *
	FDA	68,3 *	52,8 *	-25,0 ns	-2,5 ns	-15,0 ns	-10,1 ns	68,6 *	-63,8 *	-79,8 **	-18,8 ns	-79,8 **	-4,8 ns	-81,9 **	-11,6 ns	80,6 **
	LIGNINA	33,4 ns	32,1 ns	-47,1 ns	-0,2 ns	-6,5 ns	-40,0 ns	60,6 *	-42,9 ns	-53,4 *	-22,1 ns	-53,4 *	-1,5 ns	-50,5 *	0,0 ns	0,0 ns
	DINSITU	-46,9 ns	-6,2 ns	-0,9 ns	35,0 ns	0,2 ns	-30,1 ns	-15,5 ns	27,4 ns	-32,9 ns	4,3 ns	-32,9 ns	-0,0 ns	40,4 ns	23,9 ns	0,0 ns
	DIWMS	-67,4 *	-44,6 ns	20,6 ns	9,7 ns	11,3 ns	5,0 ns	-66,6 *	63,6 *	77,4 **	12,5 ns	77,4 **	1,5 ns	95,7 **	23,9 ns	-70,5 **
DEF	-70,2 **	-40, * ns	11,7 ns	16,3 ns	12,0 ns	0,3 ns	-58,1 *	59,9 *	72,9 **	8,4 ns	72,9 **	1,0 ns	41,4 ns	41,4 ns	-50,5 *	
<i>S. scabra</i>	PC	6,6 ns	26,3 ns	-3,4 ns	-24,4 ns	19,2 ns	10,3 ns	17,0 ns	27,6 ns	-2,3 ns	3,5 ns	-2,3 ns	-2,7 ns	-20,2 ns	-16,3 ns	0,4 ns
	FDN	-24,2 ns	-16,5 ns	-11,8 ns	0,4 ns	6,7 ns	-0,3 ns	-30,8 ns	59,2 *	-30,1 ns	10,8 ns	-30,1 ns	48,0 *	6,6 ns	59,3 *	-14,5 ns
	FDA	75,8 **	35,2 ns	-15,2 ns	-46,2 ns	1,0 ns	-15,3 ns	77,3 **	-26,8 ns	-63,5 *	-7,5 ns	-63,5 *	-82,7 **	-75,2 **	-23,4 ns	50,4 *
	LIGNINA	86,1 **	21,1 ns	-7,4 ns	-17,9 ns	14,1 ns	-16,23 ns	43,1 ns	-3,3 ns	-30,7 ns	-0,7 ns	-30,7 ns	-60,0 *	-41,2 ns	-11,0 ns	-11,0 ns
	DINSITU	-24,8 ns	-29,1 ns	-3,1 ns	2,8 ns	-0,3 ns	-5,4 ns	-30,8 ns	92,3 **	-31,2 ns	-2,1 ns	-31,2 ns	11,3 ns	6,0 ns	0,0 ns	28,8 ns
	DIWMS	6,6 ns	-0,4 ns	0,3 ns	19,5 ns	15,1 ns	-1,3 ns	-0,0 ns	6,1 ns	-0,0 ns	3,6 ns	-0,0 ns	-0,8 ns	7,3 ns	0,0 ns	28,8 ns
DEF	-63,8 *	-30,5 ns	25,4 ns	88,8 **	3,6 ns	15,6 ns	-48,5 *	8,0 ns	22,8 ns	2,8 ns	22,8 ns	48,0 ns	48,0 ns	6,0 ns	-41,2 ns	
<i>T. cinerea</i>	PC	2,9 ns	7,4 ns	-35,0 ns	-2,7 ns	-20,8 ns	9,6 ns	21,3 ns	-8,1 ns	-8,8 ns	4,8 ns	-8,8 ns	-41,9 ns	-43,3 ns	27,1 ns	53,8 *
	FDN	-6,5 ns	8,7 ns	39,1 ns	-3,0 ns	15,5 ns	-10,9 ns	-52,3 *	18,3	18,8 ns	-6,2 ns	18,8 ns	7,6 ns	44,5 ns	-7,4 ns	-33,6 ns
	FDA	8,6 ns	-9,0 ns	-28,3 ns	3,1 ns	-19,1 ns	16,9 ns	72,9 **	-28,1 ns	-28,4 ns	10,1 ns	-28,4 ns	-16,0 ns	-77,2 **	1,4 ns	57,8 *
	LIGNINA	-7,0 ns	-12,4 ns	-4,4 ns	-12,5 ns	-0,6 ns	56,9 *	61,8 *	-0,4 ns	-0,4 ns	0,49 *	-0,4 ns	-2,98 ns	-63,7 *	9,8 ns	9,8 ns
	DINSITU	-14,6 ns	8,4 ns	25,2 ns	-33,5 ns	-0,1 ns	3,8 ns	-0,1 ns	18,5 ns	-16,9 ns	3,4 ns	-11,8 ns	-0,2 ns	1,5 ns	9,1 ns	94,4 **
	DIWMS	-1,2 ns	-12,8 ns	-12,3 ns	-4,4 ns	-4,0 ns	47,7 ns	73,1 **	-4,2 ns	-4,4 ns	39,0 ns	3,0 ns	-6,0 ns	-73,5 **	1,5 ns	-63,7 *
DEF	-9,9 ns	4,5 ns	9,9 ns	-2,3 ns	19,8 ns	16,2 ns	-76,4 **	33,9 ns	33,7 ns	-9,5 ns	33,7 ns	27,0 ns	27,0 ns	1,5 ns	-63,7 *	
Leguminosas	DINSITU	-14,9 ns	-10,9 ns	-0,5 ns	-12,0 ns	-12,5 ns	-3,1 ns	0,2 ns	78,6 **	6,4 ns	9,6 ns	6,4 ns	17,5 ns	-0,3 ns	0,4 ns	0,4 ns
	PC	-9,8 ns	-0,4 ns	0,4 ns	-0,6 ns	13,3 ns	-6,7 ns	21,9 ns	-0,1 ns	9,2 ns	4,9 ns	9,2 ns	-3,1 ns	-0,0 ns	-0,2 ns	-10,9 ns
	FDN	0,0 ns	1,1 ns	-0,9 ns	31,9 ns	-11,2 ns	-1,5 ns	-4,6 ns	2,1 ns	-0,1 ns	-2,7 ns	-0,1 ns	-3,6 ns	16,6 ns	-3,8 ns	-60,8 *
	FDA	18,0 ns	5,9 ns	-4,9 ns	-5,7 ns	-2,2 ns	5,4 ns	-0,7 ns	-6,7 ns	-1,8 ns	-0,4 ns	-1,8 ns	-4,8 ns	-26,1 ns	-0,3 ns	73,7 **
	LIGNINA	4,8 ns	2,0 ns	-2,3 ns	-25,1 ns	4,0 ns	0,7 ns	3,2 ns	-1,5 ns	-1,2 ns	4,6 ns	7,3 ns	-2,6 ns	-38,4 ns	0,4 ns	0,4 ns
	DIWMS	1,8 ns	0,4 ns	-0,5 ns	-14,9 ns	0,2 ns	3,8 ns	-0,7 ns	-0,1 ns	1,6 ns	2,0 ns	-0,1 ns	0,8 ns	-18,5 ns	3,5 ns	75,0 **
DEF	-4,2 ns	-2,3 ns	3,4 ns	18,9 ns	-13,8 ns	4,1 ns	-35,2 ns	1,1 ns	16,2 ns	-7,4 ns	-46,7 ns	10,0 ns	-0,3 ns	-0,3 ns	-38,4 ns	

* = Diferencias altamente significativas (P<0,01); ns = Diferencias no significativas (P>0,05); 1, 2, 3; n=8; 4= *D. barbatum*, 5= *S. scabra*, 6= *T. cinerea*; n=24. DIWMS: Digestibilidad in vitro de la materia seca; DEF: Degradabilidad efectiva.

Tabla 8. Relaciones entre la degradación *in situ* de tejidos a las 48-72 horas e indicadores de calidad nutricional de leguminosas.

Especies	Composición química	Esclerénquima	Xilema	Floema	Hidrenquima	Epilaba	Epilada	Taninos	Mesófilo	Tejidos lentamente degradables	Tejidos rápidamente degradables	Tejidos no degradables	Area total	Degradabilidad (def)	Dinsitu	Lignina	
D. barbatum	PC	-69,9 *	-30,2 ns	-9,8 ns	-2,8 ns	19,6 ns	-0,0 ns	-5,5 ns	43,2 ns	48,4 *	9,2 ns	-54,4 *	35,6 ns	85,9 **	18,6 ns	-38,7 ns	
	FDN	52,4 *	8,6 ns	-17,5 ns	-0,5 ns	-13,6 ns	-7,1 ns	19,5 ns	-16,1 ns	-20,8 ns	-16,5 ns	37,3 ns	-31,0 ns	-59,7 *	-16,9 ns	56,3 *	
	FDA	69,2 *	25,9 ns	-8,8 ns	2,1 ns	-31,7 ns	-12,0 ns	9,3 ns	-30,2 ns	-40,0 ns	-32,4 ns	57,0 *	-52,3 *	-81,9 **	-9,9 ns	80,6 **	
	LIGNINA	43,4 ns	37,1 ns	-23,0 ns	19,4 ns	-46,0 ns	-36,5 ns	0,0 ns	-29,5 ns	49,6 *	-56,8 *	49,8 *	-54,5 *	-50,5 *	0,9 ns	0,0 ns	
	DINSITU	-23,5 ns	6,3 ns	-12,1 ns	52,0 *	-10,9 ns	-19,8 ns	-28,0 ns	1,5 ns	0,1 ns	-17,4 ns	-3,3 ns	-0,8 ns	40,4 ns	95,7 **	14,9 ns	-70,5 **
	DIVMS	-79,1 **	-31,2 ns	0,5 ns	-3,5 ns	32,4 ns	4,0 ns	-10,8 ns	38,5 ns	48,5 *	25,2 ns	-63,5 *	55,3 *	47,2 *	28,6 ns	50,5 *	
DEF	-81,3 **	-25,0 ns	-0,9 ns	-0,5 ns	24,2 ns	0,2 ns	-16,7 ns	34,9 ns	42,1 ns	14,4 ns	-58,4 *	-11,5 ns	-20,2 ns	-1,6 ns	0,4 ns		
S. scabra	PC	-0,0 ns	-2,0 ns	7,2 ns	0,8 ns	0,0 ns	0,0 ns	8,6 ns	-3,2 ns	-16,9 ns	7,5 ns	53,4 *	-4,0 ns	6,6 ns	-0,0 ns	-14,5 ns	
	FDN	39,5 ns	57,1 *	-13,2 ns	60,2 *	-4,2 ns	-3,3 ns	-3,3 ns	-0,2 ns	-2,8 ns	61,2 *	14,6 ns	-15,4 ns	-75,2 **	-3,3 ns	50,4 *	
	FDA	32,7 ns	42,5 ns	0,9 ns	61,6 *	5,8 ns	5,8 ns	-56,9 *	14,2	13,5	73,0 **	-14,0 ns	0,1 ns	-41,2 ns	-2,1 ns	-11,0 ns	
	LIGNINA	-0,1 ns	0,9 ns	2,2 ns	0,9 ns	25,2 ns	-4,2 ns	29,4 ns	2,0 ns	2,0 ns	0,1 ns	-0,0 ns	14,6 ns	6,0 ns	1,1 ns	28,8 ns	
	DINSITU	-2,2 ns	2,2 ns	-48,2 *	-5,0 ns	20,5 ns	-25,1 ns	10,0 ns	43,1 ns	43,1 ns	-1,6 ns	-63,4 *	37,6 ns	7,3 ns	2,3 ns	-41,2 ns	
	DIVMS	-55,7 *	-48,2 *	-8,9 ns	23,1 ns	-15,7 ns	-26,9 ns	20,1 ns	-15,7 ns	-6,4 ns	-15,7 ns	-6,4 ns	-4,5 ns	-43,3 ns	-51,2 *	53,8 *	
DEF	-60,6 ns	48,8 *	6,7 ns	-0,0 ns	10,7 ns	24,8 ns	-27,3 ns	-27,3 ns	4,9 ns	10,7 ns	4,9 ns	3,8 ns	44,5 ns	42,4 ns	-33,6 ns		
D. barbatum	PC	-35,1 ns	-1,9 ns	20,0 ns	21,8 ns	15,7 ns	-0,0 ns	-0,0 ns	-0,0 ns	21,8 ns	21,8 ns	-17,7 ns	18,9 ns	-77,2 **	40,9 ns	57,8 *	
	FDN	-22,1 ns	-0,0 ns	8,7 ns	21,3 ns	22,0 ns	21,3 ns	2,5 ns	-2,5 ns	21,3 ns	21,3 ns	-5,8 ns	15,8 ns	-63,7 *	49,9 *	9,8 ns	
	FDA	-4,8 ns	0,0 ns	-3,3 ns	16,5 ns	4,8 ns	16,5 ns	0,0 ns	0,0 ns	0,0 ns	0,0 ns	-1,8 ns	43,5 ns	1,5 ns	-17,0 ns	94,4 **	
	LIGNINA	0,6 ns	-17,2 ns	-9,6 ns	-1,1 ns	-15,8 ns	27,4 ns	27,4 ns	48,7 *	48,7 *	-1,1 ns	-2,4 ns	-1,6 ns	-73,5 **	-24,7 ns	-63,7 *	
	DINSITU	-2,2 ns	-2,2 ns	0,4 ns	-1,5 ns	-22,2 ns	-1,5 ns	-22,2 ns	17,1 ns	-22,6 ns	6,9 ns	14,0 ns	-1,0 ns	-0,3 ns	3,7 ns	-10,9 ns	
	DIVMS	-9,2 ns	-0,2 ns	-17,5 ns	-2,0 ns	-13,2 ns	44,1 **	-0,5 ns	-0,6 ns	-9,0 ns	0,4 ns	-5,8 ns	0,4 ns	-37,6 *	-0,0 ns	-60,8 *	
leguminosas	PC	13,7 ns	1,5 ns	3,3 ns	0,0 ns	4,1 ns	1,8 ns	1,8 ns	-2,4 ns	21,1 ns	21,1 ns	-7,4 ns	11,6 ns	-38,4 ns	0,2 ns	75,0 **	
	FDN	1,0 ns	0,0 ns	4,1 ns	-14,7 ns	3,2 ns	-0,0 ns	-1,2 ns	12,9 ns	12,0	4,2 ns	0,1 ns	5,8 ns	-26,1 ns	-12,6 ns	73,7 **	
	FDA	-0,9 ns	0,0 ns	4,1 ns	-9,4 ns	3,2 ns	0,2 ns	-6,4 ns	23,4 ns	21,1 ns	-0,5 ns	-7,4 ns	11,6 ns	-18,5 ns	0,2 ns	75,0 **	
	LIGNINA	-2,6 ns	0,1 ns	1,8 ns	13,0 ns	-8,5 ns	5,2 ns	-22,1 ns	11,5 ns	14,6 ns	-4,4 ns	-35,7 *	5,1 ns	-18,5 ns	0,2 ns	75,0 **	
	DIVMS	-0,3 ns	-2,4 ns	-0,0 ns	18,5 ns	-12,1 ns	2,6 ns	-20,9 ns	9,5 ns	1,0 ns	8,7 ns	-35,1 *	2,4 ns	-18,5 ns	0,1 ns	-38,4 ns	
	DEF	-0,5 ns	-5,2 ns	-1,2 ns	18,5 ns	-12,1 ns	2,6 ns	-20,9 ns	9,5 ns	1,0 ns	8,7 ns	-35,1 *	2,4 ns	-18,5 ns	0,1 ns	-38,4 ns	

* = Diferencias significativas (P<0,05); ** = Diferencias altamente significativas (P<0,01); ns= Diferencias no significativas (P>0,05). 1, 2, 3: n=8; 4= D. barbatum, S. scabra, T. chirena n=24.

Conclusiones

La mayor disponibilidad de agua, incidió en las gramíneas C_4 en una mayor degradación de los tejidos de rápida y lenta degradación, asociada a mejores indicadores de composición química y a la ruta fotosintética, la especie *B. pertusa* presentó las mejores características forrajeras tanto en lluvia como en sequía.

En *B. pertusa* se presentaron a las 24 y 48 horas alta y positivamente relacionadas con la degradación de la epidermis adaxial y el FDN $R^2=90,2$; el mesófilo y la DIVMS $R^2=-80,1$; los tejidos rápidamente degradables y la DIVMS $R^2=76,9$; los tejidos lentamente degradables y el FDA $R^2=83,9$; el mesófilo y la PC $R^2=64,2$ y relaciones significativas negativas entre la epidermis adaxial con la DIVMS $R^2=-73,1$, los tejidos lentamente degradables con la DEF $R^2=-74,3$, la degradación de los tejidos con el FDA $R^2=-93,2$, la epidermis adaxial con la PC $R^2=-87,6$; y el esclerenquima con la DIVMS y la PC $R^2=-84,3$ y $R^2=-90,8$

En *B. repens* la complejidad de estructura kranz aunada a la presencia de mestoma y la mayor área del xilema, disminuye marcadamente la degradación microbiana de las láminas foliares y es una importante característica que permite entender los factores que limitan la utilización de esta especie por los rumiantes.

En *B. repens* como en *B. pertusa* las mayores áreas residuales de los tejidos después de 72 horas de incubación ruminal fueron la estructura kranz entre 34,23% y 36,54 %, el mesófilo entre 20,99% a 21,40%, el xilema del 11,54% a 17,10% y la epidermis adaxial entre 11,82% y 13,97%, no obstante la proporción de esclerenquima fue la característica anatómica que mejor se relacionó con indicadores de calidad nutricional.

S. scabra presentó mayor digestibilidad *in situ* de los tejidos rápidamente degradables en los dos periodos, la baja disponibilidad de agua incrementó en un 134,6% la degradación de estos tejidos, asociado posiblemente al aumento del nitrógeno (5,67%) y del área de estos tejidos (11,41%), adicionalmente en esta especie el área residual de los taninos no presentó relación directa con la degradación *in situ* del mesófilo.

La tasa y extensión de la degradación *in situ* de las epidermis de las leguminosas, se incrementaron marcadamente a mayor tiempo de incubación en el rumen, presentándose diferencias entre las especies, situación que no se exhibió en gramíneas, adicionalmente, la disponi-

bilidad de agua incremento en un 34,13% la degradación *in situ* de estos tejidos.

En *D. barbatum* se presentaron relaciones positivas importantes entre la degradación de las epidermis a las 24 y 48 horas con la DIVMS y la DEF, explicando en un 77,4% y 72,95% el porcentaje de la DIVMS y de la DEF, de igual manera se reportó relaciones negativas entre la degradabilidad de las epidermis y los porcentajes de FDN, FDA, lignina y taninos con un $R^2=-0,76$; $R^2=-0,79$, $R^2=-0,53$ y $R^2=-0,76$ respectivamente. En la especie *S. scabra* se presentó una relación positiva entre las áreas residuales de los tejidos lentamente degradables con la lignina y el FDA, explicándolos en 60,2% y 61,6% ($P<0,05$).

Los resultados de los análisis de la degradación de tejidos de esta investigación son los primeros reportes a nivel mundial de las especies evaluadas, siendo un aporte importante en el conocimiento de la biodiversidad con énfasis en leguminosas forrajeras.

BIBLIOGRAFÍA

- Akin, D.E. 1979. Microscopic evaluation of forages digestion by rumen microorganisms review. Journal of Animal Science. 48(3):701-709.
- Akin, D.E. 1989. Histological and physical factors digestibility of forages. Agronomy Journal. 81:17-23.
- Akin, D.E. 1993. Perspectives of cell wall biodegradation session synopsis. Forage cell structure and digestibility of forages. Agronomy Journal. 81:17-23.
- Akin, D.E. y Burdick, D. 1973. Microanatomical differences of warm-season grasses revealed by light and electron microscopy. Agronomy Journal. 65:533-537.
- Akin, D.E.; Amos, H.E.; Barton, I. y Burdick, D. 1973. Rumen microbial degradation of grass tissue by scanning electron microscopy. Agronomy Journal. 65:533-537.
- Akin, D.E.; Burdick, D. y Michaels, G. 1974. Rumen bacterial interrelationships with plant tissue during degradation revealed by transmission electron microscopy. American Society for Microbiology. 6:1149-1156.
- Akin, D.E. y Burdick. 1975. Percentage of tissue types in tropical and temperate grass leaf blades and degradation of tissues by rumen microorganisms. Crop Science. 15:661-668.
- Akin, E.D.; Robinson, E.L.; Franklin, E.B. y Himmelsbach, S.D. 1977. Changes with maturity in anatomy, histochemistry, chemistry and tissue digestibility of Bermudagrass plant parts. Journal Agricultural Food Chemistry. 25(1):179-186.
- Akin, D.E. y Robinson, E. 1982. Structure of leaves and stems of arrowleaf acrimson clovers as related to *in vitro* digestibility. Crop Science 22:24-29.
- Akin, D.E. y Barton, F.E. 1983. Rumen microbial attachment and degradation of plant cell wall. Feed Proceeding. 42:114.
- Akin, D.E. y L.L. Rigsby. 1985. Degradation of Bermuda and orchardgrass by species of ruminal bacteria. Applied and Environmental Microbiology. 50:825-830.
- Akin, D. E. y Benner, R. 1988. Degradation of polysaccharides and lignin by ruminal bacteria and fungi. Applied and Environmental Microbiology. 54:1117-1125.
- Alves de Brito C.A.; Alquini, Y.; Rodella R. y Deschamps, C. 1997. Alterações histológicas de três ecotipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), Após digestão *in vitro* in reunaio anual da sociedade brasileira de zootecnia. 34, Juiz de Fora-MG. Anais da XXXIV Reuniao da SBZ. 2:12-14
- Alves de Brito C.A.; Rodella, R.; Deschamps, E.C. y Alquini, Y. 1999. Anatomia quantitativa e degradacao in vitro de tecidos em cultivares de Capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). Revista Brasileira de Zootecnia. 28(2):223-229.
- AOAC. 1975. Official Methods of Analysis (12th Edit). Association of Official Agricultural Chemists, Washington DC. 1094p.
- Barahona, R.; Lascano, C.; Cochran, R.; Morrill, J. y Titgemeyer, E. 1997. Intake, digestion and nitrogen utilization by sheep fed tropical legumes with contrasting tannin concentration and astringency. Journal of Animal Science. 75:1633-1640.
- Barahona, R. y Ávila, P. 2004. Metodología más usadas para cuantificar taninos condensados. En: Taninos en la nutrición de rumiantes en Colombia. Memorias del taller sobre taninos. CIAT-ETH. Pág. 9-14.
- Becerra, L.N; Barrera, E.T y Marquinez, X.C. 2002. Anatomía y morfología de los órganos vegetativos de plantas vasculares. Unibiblos. Universidad Nacional de Colombia, Bogota. 276p.
- Carulla, J.; Lascano, C. y Ward, J. 1991. Selectivity of resident and oesophageal steers grazing *Arachis pinntoi* and *Brachiaria dictyoneura* in the Llanos of Colombia. Tropical Grasslands. 25:317- 324.
- Carulla, J. y Pabón, M. 2004. Un sistema *in vitro* para evaluar los efectos de los taninos en la degradación de la proteína bajo condiciones ruminales y abomasales. En Hess y Gómez. Taller Taninos en la Nutrición de rumiantes en Colombia. CIAT-ETH. 63p.
- Chamorro V., Diego R. Gallo B., Jorge E., Arcos D., Juan C. y Vanegas R., Miguel A. 1998. Gramíneas y Leguminosas, consideraciones Agrozoóticas para ganaderías

del Trópico Bajo. CORPOICA, Regional 6, Centro de Investigación Nataima, Tolima, Colombia, 181p.

Chesson, A.; Stewart, C.S.; Dalgarno, K. y King, T.P. 1986. Degradation of isolated grass mesophyll, epidermis and fibre cell walls in the rumen and by cellulolytic rumen bacteria in axenic culture. *Journal of Applied Bacteriology*. 60:327-336.

Chesson, A. y Forsberg, C.W. 1988. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. En: P.N. Hobson (Ed.). *The rumen microbial ecosystem*. Elsevier Applied Science, New York. Pp. 251-284.

Esau, K. 1985. Anatomía vegetal. Editorial Omega S.A. Barcelona (España). Tercera Edición. Pág 25, 26; 99; 168-186; 173-174; 202; 250-290; 296-297; 460-462.

Fahn, A. 1985. Anatomía vegetal. 3ª. Edición. Ediciones Pirámide, S.A. Madrid. 569p.

Fay, J.P.; Cheng, K.L.; Hanna, M.R.; Howarth, R.E. y Casteron, J.W. 1981. A scanning electron microscopy study of the invasion of leaflets of a bloat-safe and a bloat-causing legume by rumen microorganisms. *Canadian Journal of Microbiology*. 27:390-399.

Gifford, R.O. y Jensen, E.H. 1967. Some effects of soil moisture regimes and bulk density of forage quality in the greenhouse. *Agronomy Journal*. 59:75-77.

Hanna, W.W.; Monson, W.G. y Burton, G.W. 1973. Histological examination of fresh forage leaves after *in vitro* digestion. *Crop Science*. 13(1):98-102.

Hattersley, P.W. y Watson, L. 1976. C₄ Grasses: an Anatomical criterion for distinguishing between NADP-Malic enzymes species and PCK or NAD-Malica enzyme species. *Australian Journal of Botany*. 24:279-308.

Jensen, W.A. 1962. Botanical Histochemistry. Principles and practice. Ed. W.A. Freeman & Co. S. Francisco. 408 p.

Joblin, K.N. y Naylor, G.E. 1989. Fermentation of woods by rumen anaerobic fungi. *FEMS. Microbiology Letters*. 65:111-122

Johnson H. B. 1989. Plant subescence an ecological perspective. *Botanic Review*. 41:233-258.

Judd, I.B. 1965. Technical notes. *Journal of Range Management*. 18:341-342.

Laetsch, W. 1974. The C₄ Syndrome: Structural analysis. *Annual Review Plant Physiology*. 25:25-72

Lascano, C. 2004. Efecto del ambiente y del genotipo en la composición y actividad biológico de los taninos presentes en leguminosas. En: Taninos en la nutrición de rumiantes en Colombia. Memorias del taller sobre taninos. CIAT- ETH. Pág. 28-38.

Less, G.L. 1984. Cuticle and cell wall thickness. Relation to mechanical strength of whole leaves and isolate cells from some forage legume. *Crop Science*. 24:1077-1081.

Lorensi, E.T.; Bonnacerrere, L.M.; Goncalves, M.B. y Souza, J.H. 1992. Comparacao entre as técnicas *in vitro*, *in vivo*, *in situ*, *in vitro* e *in vitro* con sacos de náilon para avaliação da digestibilidade de forragens. *Revista de la sociedade Brasileira de Zootecnia*. 21(3):307-377.

Metcalf, C.R. 1950. Anatomy of the dicotyledons. Leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Volume I. Oxford, At the Clarendon Press. Pp. 477-537.

Metcalf, C.R. 1972. Anatomy of the dicotyledons. Leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Volume I. Oxford, At the Clarendon Press. 724.

Oakes, A.J. 1968. Replacing hurricane grass in pastures of the dry tropics. *Tropical Agriculture*. 45:235-241.

Oakes, A.J. 1969. Pasture grasses in the U.S. Virgin Islands. *Turrialba*. 19(3):359-367.

Okorie, A.; Buttery, P. y Lewis, V. 1977. Ammonia concentration and protein synthesis in the rumen. *Abstracts of communication. Proceeding of Nutrition Society*. 36:38A.

Ørskov, E.R. y McDonal, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science (Camb.)*. 92:499-503.

Ørskov, E.; Hovell, F. y Mould, F. 1980. Uso de la técnica de la bolsa de nylon para la evaluación de alimentos. *Producción Animal Tropical*. 5:217.

Paniagua R.; Nistal M.; Sesma P.; Álvarez, U.M.; Fraile B.; Anadón R.; Sáez E.J. y De Miguel M.P. 1997. Citología e histología vegetal y animal. *Biología de las células y tejidos animales y vegetales*. Editorial. McGRAW-Hill Interamericana. Segunda edición. Pág. 775; 765-766; 775-783; 788-796; 811-805; 869; 875-876.

Pond, K.R.; Ellis, W.E.; Lascano C.E. y Akin, D.E. 1987. Fragmentation and flow of grazed coastal bermudagrass through the digestive tract of cattle. *Journal of Animal Science*. 65:609-618.

Queiroz, D.S.; Gomide, J.A. y Maria, J. 2000. Evaluation of top and bottom leaf and stem fractions from tiller of three forage grasses: 1. *in vitro* disappearance and chemical composition. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 29(1):53-60.

Reed, J.D. 1994. Características de las plantas tropicales que determinan el valor nutritivo. *Madison, Wisconsin, USA. Ganadería y recursos naturales en América central: estrategias para la sostenibilidad. CATIE*.

Rodella, R.A.; Ayoub, J. y Maimoni R.C. 1984. Estudo quantitativo de características anatômicas da folha de *Panicum maximum* Jacq. e *Panicum coloratum* L. *Revista Agrociencia*. (Piracicaba). 59:163-74.

SAS. 1998. SAS User's Guide: Basics. *Estadistic Análisis System*. Institute. Cary, NC, USA.

Sierra, O.; Bedoya, J.; Monsalve, D. y Orozco, J. 1986. Observaciones sobre Colosuana (*Bothriochloa pertusa* (L.) Camus) en la Costa Atlántica de Colombia. *Pasturas Tropicales*. 8(1):6-9.

The Late; Gardener, C.J. y Ash, A.J. 1994. Diet selection in six *Stylosanthes*-grass pasture and its implication for pasture stability. *Tropical Grasslands*. 28:109-119.

Tilley, J.M. y Terry, R.A. 1963. A two-stage technique for *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*. 18:104-111.

Twidwell, E.; Johnson, K.; Patterson, J.; Cherney, J. y Bracker, C. 1991. Degradation of switchgrass anatomical tissue by rumen microorganisms. *Crop Science*. 30:1321-1328.

Van Soest P.J. y Wine, R.H. 1968. Determination of Lignin an Cellulose in ADF With Permanganate. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*. 51:780.

Van Soest, P.J., Robertson J. y Lewis, B. 1991. Symposium: Carbohydrate Methodology, Metabolism and Nutritional Implications in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*. 74:3583-3597.

Ventrella, M.C.; Rodella, R.C. y Curi, P. 1997a. Anatomia e bromatologia de espécies forrageiras de *Cynodon* Rich. I- Caule. In *Reuniao Anual Da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. 34, Juiz de Fora-MG. Anais da XXXIV Reuniao da SBZ. 2:2-5.

Ventrella, M.C.; Rodella, R.C. y Curi, P. 1997b. Anatomia e bromatologia de espécies forrageiras de *Cynodon* Rich. II- Caule. In *Reuniao Anual Da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. 34, Juiz de Fora-MG. Anais da XXXIV Reuniao da SBZ. 2:6-8.

Vough, L.R. y Marten G.C. 1971. Influence of soil moisture and ambient temperature on yield an quality of alfalfa forage. *Agronomy Journal*. 63: 40-42.

Walgenbach, R.P.; Marten G.C. y Blake G.R. 1981. Release of soluble protein and nitrogen in alfalfa. I Influence of growth temperature and soil moisture. *Crop Science*. 21:843-849.

Weimer, P.J. 1996. Why don't ruminal bacteria digest cellulose faster?. *Journal of Dairy Science*. 79:1496-1502.

Wilkins, R.J. 1972. The potential digestibility of cellulose un grasses and its relationship whit chemical and anatomical

parameters. *Journal of Agricultural Science*. 78:457-464.

Wilson, J.R. 1973. Variation of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller. II. Anatomy. *Australian Journal of Agricultural Research*. 27:355-364.

Wilson, J.R. 1976. Variation of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller. II. Anatomy. *Australian Journal of Agricultural Research*. 27:355-64.

Wilson, J.R. 1983. Effect of water stress on *in vitro* dry matter digestibility and chemical composition under tree crops. In: Ahmad Tajuddin Z. (ed.) *Proc. Int. Livestock-Tree Cropping Workshop*, Serdang, Malaysia. FAO. Roma. Pp. 39-54.

Wilson, J.R. 1993. Organization of forage plant tissues. In: Jung, H.G., Buxton, D.R., Hatfield, R.D. *et al.* (Eds.) *Forage cell wall structure and digestibility*, Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. Pp. 1-32.

Wilson, J.R. y T.T. Ng. 1975. Influence of water stress on parameter associated with herbage quality of *Panicum maximum* var. *Trichoglume*. *Australian Journal of Agricultural Research*. 26:127-135.

Wilson, J.R.; Brown, R.H. y Windham, W.R. 1983. Influence of leaf anatomy on the dry matter digestibility of C₃, C₄, and C₃/C₄ intermediate types of *Panicum* species. *Crop Science*. 23(1):141-146.

Wilson, J.R. y Hattersley, P.W. 1989. Anatomical characteristics and digestibility of leaves of *Panicum* and other grass genera of C₄ photosynthetic pathway. *Australian Journal Agricultural Research*. 40(1):125-136.

Wilson, J.R.; Deinum, B. y Engels, F.M. 1991. Temperature effects on anatomy and digestibility of leaf and stem of tropical and temperate forage species. *Netherlands Journal of Agricultural Science*. 39(1):31-48.

Wilson, J. R. y D.R. Mertens. 1995. Cell wall accessibility and cell structure limitations to microbial digestion of forage. *Crop Science* 35:251-255.

Wilson, J. R. y P.M. Kennedy. 1996. Plant and animal constraints to voluntary feed intake associated with fibre characteristics and particle breakdown and passage in ruminants. *Australian Journal Agricultural Research*. 47:199-225.

Wilson, J.R. y Hatfield, R.D. 1997. Structural and chemical change of cell wall types during stem development: consequences for fibre degradation by rumen microflora. *Australian Journal Agricultural Research*. 48:165-180.