

Efecto de la especie y la edad de rebrote en el perfil de ácidos grasos de leguminosas y arbustivas tropicales

Effect of the species and the regrowth age on the fatty acid profile of tropical legumes and shrubs

Efeito da espécie e da idade de rebrotação no perfil de ácidos graxos de leguminosas e arbustivas tropicais

José Edwin Mojica-Rodríguez,^{*1} Edwin Castro-Rincón,² Juan Carulla-Fornaguera,³
Carlos Eduardo Lascano-Aguilar⁴

¹ Investigador PhD, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Centro de Investigación Motilonia. Agustín Codazzi, Colombia. Correo: jmojica@corpoica.org.co

² Investigador PhD, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Centro de Investigación Obonuco. Pasto, Colombia. Correo: ecastro@corpoica.org.co

³ Docente, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Producción Animal. Bogotá, Colombia. Correo: jecarullaf@unal.edu.co

⁴ Investigador emérito, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Bogotá, Colombia. Correo: c.lascano@cgiar.org.co

Fecha recepción: 13/06/2016

Fecha aprobación: 30/03/2017

Para citar este artículo: Mojica-Rodríguez, J. E., Castro-Rincón, E., Carulla-Fornaguera, J., & Lascano-Aguilar, C. E. (2017). Efecto de la especie y la edad de rebrote en el perfil de ácidos grasos de leguminosas y arbustivas tropicales. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 18(3), 463-477

DOI: https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num3_art:738

* Autor de correspondencia

Resumen

Se evaluó el efecto de tres edades de rebrote (4, 8 y 12 semanas) sobre la producción de forraje, calidad nutricional y perfil de ácidos grasos en leguminosas herbáceas: *Clitoria ternatea*, *Pueraria phaseoloides*, *Canavalia brasiliensis*, *Centrosema molle*, *Centrosema macrocarpum*, *Alysicarpus vaginalis* y *Lablab purpureus*; en leguminosas arbustivas: *Cratylia argentea*, *Gliricidia sepium*, *Desmodium velutinum*, *Cajanus cajan* y *Leucaena leucocephala*; y en una arbustiva no leguminosa: *Moringa oleifera* (Moringaceae). Se utilizó un diseño de parcelas divididas con bloques al azar, en el cual la parcela principal fue la especie forrajera y la subparcela la edad de rebrote. Los principales ácidos grasos presentes en las especies fueron el ácido palmítico (C16:0), ácido linolénico

(C18:3) y linoleico (C18:2). Sin embargo, en las leguminosas herbáceas y arbustivas, el contenido de ácidos grasos fue diferente y disminuyó con la edad de rebrote en los dos grupos. La relación C18:2/C18:3 fue mayor en las leguminosas herbáceas que en las arbustivas, lo cual podría resultar en una mayor concentración de ácido linoleico conjugado (ALC) en la grasa de la leche. La leguminosa *Cajanus cajan* presentó el mayor ($p < 0,05$) contenido de ácido linolénico (C18:3) y de precursores de ALC en las tres edades de rebrote evaluadas, lo cual sugiere que su uso en la alimentación de bovinos en sistemas de doble propósito resultaría en concentraciones altas de ALC c9 t11 en la grasa de la leche, en comparación con otras especies.

Palabras clave: ácidos grasos, alimentación de los animales, forrajes, leche, rumiante

Abstract

The effect of three regrowth ages (4, 8 and 12 weeks) on forage yield, nutritional quality and fatty acid profile were evaluated in herbaceous legumes: *Clitoria ternatea*, *Pueraria phaseoloides*, *Canavalia brasiliensis*, *Centrosema molle*, *Centrosema macrocarpum*, *Alysicarpus vaginalis*, y *Lablab purpureus*; in shrubby legumes: *Cratylia argentea*, *Gliricidia sepium*, *Desmodium velutinum*, *Cajanus cajan*, *Leucaena leucocephala* (Fabaceae); and in a non-leguminous shrub: *Moringa oleifera* (Moringaceae). A split-plot design with random blocks was used, in which the forage species was the main plot and the regrowth age the subplot. The main fatty acids found in the species were palmitic acid (C16:0), linolenic

acid (C18:3) and linoleic acid (C18:2). However, the fatty acid concentration differed between herbaceous and shrubby legumes compared to non-leguminous species, and decreased with regrowth age in both groups. The herbaceous legumes evaluated had a higher C18:2/ C18:3 proportion than shrubby legumes, which could in turn result in a higher conjugated linoleic acid (CLA) content in milk fat. The legume *Cajanus cajan* showed the highest ($p < 0.05$) linolenic acid (C18:3) and CLA precursors content in the three regrowth ages evaluated, suggesting that its use as bovine feed in dual-purpose systems can result in higher c9 t11 CLA concentrations in milk fat compared to other species.

Key words: Fatty acids, Animal feeding, Forage, Milk, Ruminants

Resumo

Avaliou-se o efeito de três idades de rebrotação (4, 8 e 12 semanas) sobre a produção de forragem, qualidade nutricional e perfil de ácidos graxos em leguminosas herbáceas: *Clitoria ternatea*, *Pueraria phaseoloides*, *Canavalia brasiliensis*, *Centrosema molle*, *Centrosema macrocarpum*, *Alysicarpus vaginalis*, *Labiab purpureus*, leguminosas arbustivas: *Cratylia argentea*, *Gliricidia sepium*, *Desmodium velutinum*, *Cajanus cajan*, *Leucaena leucocephala* (Fabaceae) e uma arbustiva não leguminosa: *Moringa oleifera* (Moringaceae). Utilizou-se um desenho de parcelas divididas com blocos aleatoriamente em que a parcela principal foi a espécie forrageira e a subparcela foi a idade de rebrotação. Os principais ácidos graxos presentes nas espécies foram o ácido palmítico (C16:0),

ácido linolênico (C18:3) e o linoleico (C18:2). No entanto, nas leguminosas herbáceas e arbustivas, o conteúdo de ácidos graxos foi diferente e diminuiu com a idade do rebrotação nos dois grupos. A relação C18:2/C18:3 foi maior nas leguminosas herbáceas do que nas arbustivas, o que poderia resultar em uma maior concentração de ácido linoleico conjugado (ALC) na gordura do leite. A leguminosa *Cajanus cajan* apresentou o maior ($p < 0,05$) conteúdo de ácido linolênico (C18:3) e de precursores de ALC nas três idades de rebrotação avaliadas, o que sugere que seu uso na alimentação de bovinos em sistemas de dupla aptidão resultaria em concentrações mais altas de ALC c9 t11 na gordura do leite em comparação com outras espécies.

Palavras chaves: ácido gordo, alimentação dos animais, forragem, leite, ruminante

Introducción

Los forrajes constituyen la base de la alimentación de los rumiantes en el sistema de producción bovino de doble propósito en el trópico seco de Colombia. La composición de los ácidos grasos (AG) en forrajes tiene especial importancia por el efecto que tienen sobre el perfil lipídico en la carne y la leche de rumiantes (Dhiman, Anand, Satter, & Pariza, 1999; Looor, Soriano, Lin, Herbein, & Polan, 2003; Shingfield, Bonnet, & Scollan, 2013; Ward, Wittenberg, Froebe, Przybylski, & Malconlmsn, 2003; White et al., 2001). En humanos, la grasa de la leche ha sido relacionada con problemas de salud, especialmente, con enfermedades coronarias, niveles altos de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y arteriosclerosis debido a su contenido alto de ácidos grasos saturados (70%) y al contenido bajo de ácidos grasos insaturados (30%) (Jensen, 2002). Sin embargo, se ha comprobado que determinados ácidos grasos en la leche (vaccénico, linoleico, linolénico) y en particular el ácido linoleico conjugado (ALC) tienen efectos benéficos para la salud humana relacionados con actividad anticarcinogénica y propiedades antidiabetogénicas, antiadipogénicas y antiteratogénicas (Belury, 2002; Dilzer & Park, 2012; Ip et al., 1999; Pariza & Hargreaves, 1985).

El ALC es producido por la biohidrogenación incompleta en el rumen de los ácidos linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) presentes en los alimentos. Por lo tanto, el aporte de estos sustratos por medio de la alimentación es una alternativa para incrementar los precursores de ALC en la leche y la carne (Dhiman et al., 1999). En sistemas lecheros especializados se ha identificado que con el uso de forrajes como principal fuente de alimento se presenta mayor concentración de ácidos grasos poliinsaturados en la leche en comparación con sistemas de alimentación basados en concentrados (Ellis et al., 2006).

Diversos factores modifican la composición de ácidos grasos en forrajes, entre los cuales se encuentran la especie, la época del año, la edad de rebrote, la fertilización nitrogenada, la intensidad de la luz y la temperatura ambiental (Boufaied et al. 2003;

Chilliard, Ferlay, & Doreau, 2001; Elgersma et al., 2004; Glasser, Doreau, Maxin, & Baumont, 2013; Váradyová, Kisidayova, Siroka, & Jalc, 2008).

Sin embargo, la mayoría de estudios sobre el contenido de AG se ha realizado con gramíneas de clima templado y, en menor medida, con leguminosas de zonas templadas y leguminosas herbáceas y arbustivas tropicales. En uno de los estudios consultados (Clapham, Foster, Neel, & Fedders, 2005), se reportaron concentraciones (porcentaje AG del total AG) de 14,4; 9,2; y 69,6% de los ácidos palmítico (C16:0), linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3), respectivamente, en la leguminosa galega (*Galega officinalis* L.); y de 15,3; 18,3; y 58,3% de los mismos ácidos grasos en el trébol blanco (*Trifolium repens* L.).

En otro estudio, Glasser et al. (2013) encontraron que en trébol blanco (*T. repens* L.) se presentó la mayor concentración (porcentaje AG del total AG) de ácido linolénico (C18:3) (58,0%), seguido por el trébol rojo (*T. pratense* L.) con 49,0% y la alfalfa (*Medicago sativa* L.) con 42,0%. En Colombia, el grupo de investigación en nutrición animal de la Universidad Nacional de Colombia encontró que la concentración (porcentaje AG del total AG) del ácido linolénico (C18:3) fue mayor en *T. repens* (56,0%) en comparación con *M. sativa* (30,0%) (León, Pabón, & Carulla, 2011).

El efecto de la edad de rebrote sobre el contenido (g/kg MS) de AG en leguminosas templadas se estudió en *Trifolium alexandrinum* L. y en *M. sativa*, y los resultados mostraron la disminución en el contenido de ácido linolénico (C18:3) con el incremento de la madurez del forraje (Khan et al., 2015).

En Colombia no se han realizado estudios controlados para evaluar la influencia de la especie y de los factores de manejo en el contenido de ácidos grasos en leguminosas tropicales utilizadas en sistemas de bovinos de doble propósito en el trópico seco. Por lo tanto, se realizó este estudio para evaluar el efecto de la edad de rebrote en diferentes especies de leguminosas herbáceas y arbustivas tropicales en la microrregión del Valle del Cesar, Colombia.

Materiales y métodos

Aval del Comité de Bioética

La investigación fue aprobada por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia (Acta 08, 6 septiembre de 2012).

Localización

El experimento se desarrolló en la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Centro de Investigación Motilonia, ubicado a 10° 00' 07" de latitud norte y 73° 14' 51" de longitud oeste, en el municipio de Codazzi, en la microrregión del Valle del Cesar del departamento del Cesar (Colombia). La zona presenta una temperatura promedio anual de 28,7 °C, humedad relativa de 70 % y una precipitación anual promedio de 1.600 mm con distribución bimodal de los meses de mayo a junio y de septiembre a diciembre.

Especies forrajeras y edades de rebrote

Se evaluaron especies de leguminosas herbáceas, leguminosas arbustivas y no leguminosas manejadas con tres edades de corte (4, 8 y 12 semanas) durante la época de máxima precipitación. Las leguminosas herbáceas evaluadas fueron *Clitoria ternatea* L. (Campanita), *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth. (Kudzu tropical), *Canavalia brasiliensis* Mart. ex Benth. (Canavalia), *Centrosema molle* Mart. ex Benth. (Centrosema), *Centrosema macrocarpum* Benth. (Centrosema), *Alysicarpus vaginalis* (L.) D. C. (Alysicarpus) y *Lablab purpureus* (L.) Sweet (Lablab). Como especies arbustivas se incluyeron las leguminosas *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze (Veranera), *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp (Matarratón), *Desmodium velutinum* (Willd.) D. C. (Desmodium), *Cajanus cajan* (L.) Huth (Guandul), *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit (Leucaena) y la arbustiva no leguminosa *Moringa oleifera* Lam. (Moringa).

Áreas experimentales

Los suelos del área experimental tienen una estructura francoarenosa, con pH entre 6,4 y 6,6, materia orgánica de 0,5 a 1,5 %, sin saturación de aluminio y de fácil drenaje. El área total del experimento fue de 3.414 m² dividida en parcelas y subparcelas. La parcela principal fue la especie forrajera, la cual tuvo una dimensión de 14 m de largo por 4 m de ancho (56 m²). Dentro de la parcela principal se establecieron subparcelas (edad de rebrote) de 4 m de largo por 4 m de ancho (16 m²) con una separación física por una calle de 1 m de ancho. Se tuvieron dos repeticiones de todas las especies forrajeras.

Establecimiento de las especies

Para la preparación del terreno se realizó un pase de cincel, dos pases de rastra y un pase de pulidor. El establecimiento de la mayoría de las leguminosas se realizó con semilla sexual básica y comercial. Para la siembra de *A. vaginalis* y *G. sepium* se utilizó material vegetativo. Con todas las especies se realizó una fertilización de establecimiento con P 25 y K 20 kg/ha.

Las leguminosas herbáceas se sembraron en surcos distanciados de 0,5 m con 0,2 m entre plantas. Las especies arbustivas se establecieron inicialmente en vivero y, a los 90 días, se trasplantaron a parcelas con surcos distanciados a 1 m. Las plantas en cada surco se sembraron a 1 m entre plantas. Luego del establecimiento (8 meses), se realizó un corte de uniformización en las parcelas para evaluar las diferentes edades de rebrote.

Variables medidas

Para medir la cantidad de forraje en hojas y tallos en las leguminosas herbáceas se cosechó el forraje contenido en un marco de 1 m², y en las especies arbustivas se cosechó el forraje en 3 m lineales en cada subparcela (edad de rebrote). El forraje cosechado de hojas y tallos se secó en horno durante 48 horas, a una temperatura de 55 °C. Posteriormente, se tomó una muestra compuesta (tallos y hojas) y se determinó la proteína cruda (PC) por el método

de Kjeldahl (Association of Official of Analytical Chemistry [AOAC], 2010), la fibra detergente neutro (FDN), la fibra detergente ácido (FDA) (Van Soest, Robertson, & Lewis, 1991), la grasa total por extracción con éter (AOAC, 2010) y la degradabilidad in situ de la materia seca a las 48 horas (Ørskov, Deb Howell, & Mould, 1980).

La concentración de ácidos grasos (AG) en los forrajes (hojas y tallos) se estimó a partir del extracto etéreo (EE) del forraje con base en la ecuación de Allen (2000) y se expresó como porcentaje de la materia seca. Con base en la concentración de AG (% MS) y el perfil lipídico (porcentaje de un AG en relación con el total de AG) se expresó en g/kg MS el contenido de cada AG que se identificó en el cromatograma.

Extracción de grasa y cuantificación de ácidos grasos

Para definir el perfil lipídico en las especies evaluadas se realizó la extracción y metilación de los ácidos grasos adaptando las técnicas descritas por Garcés y Mancha (1993) y por Yamasaki, Kishihara, Ikeda, Sugano, y Yamada (1999). Al forraje (50 mg) se le adicionaron 2.150 μ L de metanol absoluto, 990 μ L de tolueno, 66 μ L de ácido sulfúrico al 99,9 %, 1.000 μ L de N, N dimetilformamida y 2 mL de n-hexano. La mezcla se colocó en un baño de María (2 h a 80 °C), se dejó en reposo (5 - 10 min), se agitó y se recuperó el sobrenadante. El hexano del sobrenadante se evaporó mediante corriente de nitrógeno. Al residuo se le adicionaron 300 μ L de diclorometano y se llevó a un vial con inserto cónico.

Los ésteres de ácidos grasos metilados (FAME) de la grasa del forraje fueron cuantificados por cromatografía de gases. Se utilizó un cromatógrafo de gases (marca Shimadzu® modelo GC2014, Japón), con autoinyector AOC20i y automuestreador AOC 20C. Los FAME fueron separados en columna capilar (Rt 2560; 100 m x 0,25 mm di x 0,2 μ m espesor de la capa; Restek®, España). Las temperaturas del inyector y del FID fueron 260 °C y 270 °C, respectivamente. El programa de temperatura fue el siguiente: 140 °C por 5 min, temperatura que se

incrementó a razón de 4 °C/min hasta 190 °C y se mantuvo por 32,5 min. El *split ratio* fue de 1:100 y el He fue el gas de arrastre, con una presión de 40,4 psi. Los tiempos de retención fueron comparados con estándares conocidos (Food Industry FAMEX Mix cat 35007, España).

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño replicado de parcelas divididas con bloques al azar, en el cual la parcela principal fue la especie forrajera y la subparcela, la edad de rebrote (Steel & Torrie, 1990). En el análisis de varianza se incluyeron como fuentes de variación el efecto del bloque, la especie, la edad de rebrote y su interacción. El análisis estadístico se realizó con el PROC GLM del *software* SAS (SAS Institute Inc., 2011) (versión 9,3). La comparación de medias se realizó con el test de Duncan, con un nivel de significancia al 5 %. Para separar medias cuando se presentó una interacción significativa de la especie por la edad de rebrote, se calculó la diferencia mínima significativa (DMS) ($p < 0,05$).

Resultados

Producción de forraje

La producción de hojas (figura 1) y tallos (figura 2) en todas las especies se incrementó con la madurez. Sin embargo, la producción de hojas presentó el mayor incremento (22 veces) debido a la edad de rebrote en *M. oleifera*, seguida por *G. sepium* y *L. leucocephala* (11 veces). La veranera (*C. argentea*) presentó la mayor producción de hojas ($p < 0,05$) a las 12 semanas de rebrote (figura 1).

En todas las especies arbustivas, con excepción del *C. cajan*, la producción de tallos presentó incrementos (por encima de 10 veces) debido a madurez. Entre las arbustivas, *M. oleifera* presentó el mayor incremento (46 veces) en producción de tallos debido a madurez, mientras que *C. macrocarpum* presentó el mayor incremento (7 veces) entre las especies herbáceas (figura 2).

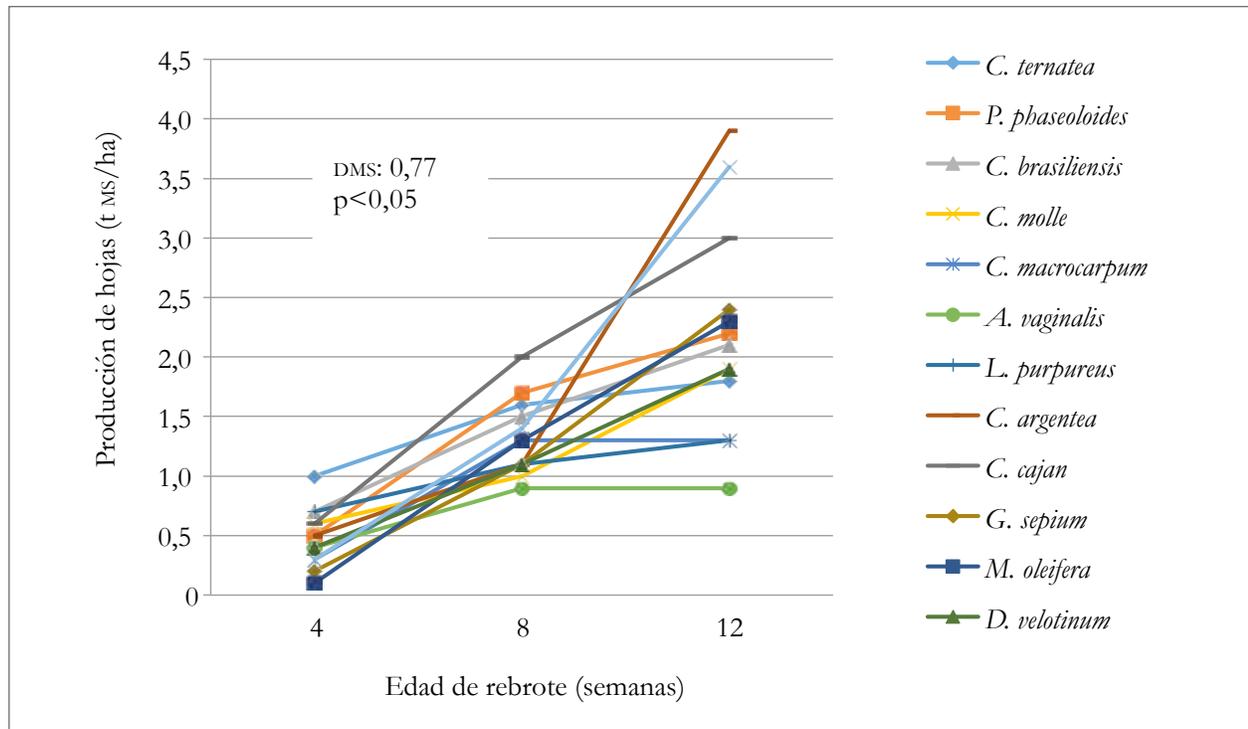


Figura 1. Producción de hojas de especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades de corte.
Fuente: Elaboración propia

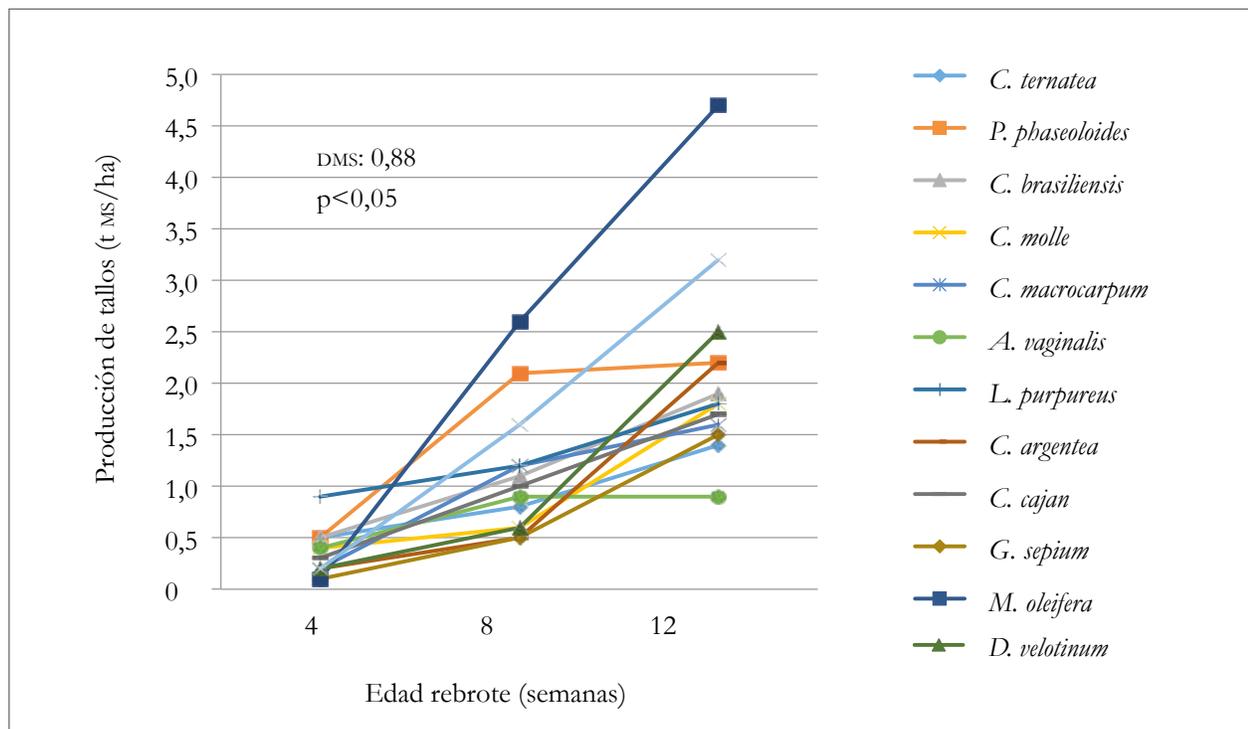


Figura 2. Producción de tallos de especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades de corte.
Fuente: Elaboración propia

Calidad nutricional

A medida que aumentó la edad rebrote se redujeron los contenidos de PC, FDN y EE, y aumentaron los contenidos de fibras (FDN y FDA) (tabla 1). Entre las leguminosas herbáceas, la especie *C. ternatea*

presentó el mayor ($p < 0,05$) contenido de PC (21,6%) y el menor contenido de FDN (49,1%), mientras que la arbustiva no leguminosa *M. oleifera* presentó el menor contenido de PC (11,5%) y la leguminosa arbustiva *C. cajan* presentó el mayor contenido de EE.

Tabla 1. Calidad nutricional (hojas y tallos) de especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades de corte

Especie	PC (%)	FDN (%)	FDA (%)	EE (%)
Herbáceas				
<i>C. ternatea</i>	21,6 ^a	49,1 ^f	38,3 ^c	2,7 ^{bc}
<i>P. phaseoloides</i>	15,4 ^{bcdef}	54,7 ^{cd}	40,4 ^{bc}	2,5 ^{cd}
<i>C. brasiliensis</i>	15,0 ^{cdef}	53,9 ^{cd}	36,9 ^c	1,7 ^g
<i>C. molle</i>	15,9 ^{bcde}	60,0 ^{ab}	44,0 ^{ab}	2,2 ^{def}
<i>C. macrocarpum</i>	14,4 ^{defg}	56,5 ^{bcd}	45,0 ^{ab}	2,4 ^{cde}
<i>A. vaginalis</i>	13,1 ^{efg}	61,1 ^a	46,2 ^a	2,3 ^{cde}
<i>L. purpureus</i>	16,8 ^{bcd}	50,7 ^{ef}	36,2 ^c	1,9 ^{efg}
Arbustivas				
<i>C. argentea</i>	12,8 ^{fg}	58,1 ^{abc}	40,5 ^{bc}	1,8 ^{fg}
<i>C. cajan</i>	15,8 ^{bcde}	59,3 ^{ab}	47,6 ^a	4,4 ^a
<i>G. sepium</i>	17,5 ^{bc}	47,7 ^f	36,6 ^c	2,4 ^{cd}
<i>M. oleifera</i>	11,5 ^g	57,2 ^{abcd}	44,6 ^{ab}	2,4 ^{cde}
<i>D. velutinum</i>	15,8 ^{bcde}	54,8 ^{cd}	40,1 ^{bc}	3,0 ^b
<i>L. leucocephala</i>	18,0 ^b	55,3 ^{cd}	44,6 ^{ab}	1,8 ^{fg}
Edad (semanas)	PC (%)	FDN (%)	FDA (%)	EE (%)
4	16,9 ^a	54,4	40,3	2,8 ^a
8	15,7 ^b	55,6	42,1	2,5 ^b
12	14,2 ^c	55,8	42,4	2,0 ^c
Fuente de variación	PC (%)	FDN (%)	FDA (%)	EE (%)
	Valor p			
Especie	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Edad	0,0001	0,23	0,12	0,0001
Especie x edad	0,39	0,13	0,52	0,43

PC = proteína cruda, FDN = fibra detergente neutro, FDA = fibra detergente ácido, EE = extracto etéreo. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de Duncan ($p < 0,05$).

Fuente: Elaboración propia

La especie arbustiva *G. sepium* presentó la mayor ($p < 0,05$) degradabilidad *in situ* de la materia seca (DISMS) a las 4 semanas de rebrote, y la leguminosa herbácea *C. macrocarpum* presentó la menor ($p < 0,05$) degradabilidad a las 12 semanas de rebrote (tabla 2). Las especies *C. ternatea*, *P. phaseoloides*, *C. brasiliensis*, *C. macrocarpum*, *G. sepium*, *M. oleifera*

y *L. leucocephala* mostraron la mayor ($p < 0,05$) reducción en la DISMS (10 o más puntos porcentuales) debido a la madurez. Las especies en las que la DISMS fue menos afectada debido a la madurez (menos de 5 puntos porcentuales) fueron *C. molle*, *A. vaginalis* y *D. velutinum* (tabla 2).

Tabla 2. Degradabilidad *in situ* (hojas y tallos) de especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas

Especie	Edad rebrote (semanas)		
	4	8	12
(% de la MS)			
Leguminosas herbáceas			
<i>C. ternatea</i>	54,3 ^a	50,3 ^{ab}	44,3 ^b
<i>P. phaseoloides</i>	51,8 ^a	42,0 ^b	41,3 ^b
<i>C. brasiliensis</i>	65,5 ^a	58,9 ^{ab}	54,9 ^b
<i>C. molle</i>	42,2	41,6	39,5
<i>C. macrocarpum</i>	45,8 ^a	43,0 ^a	35,8 ^b
<i>A. vaginalis</i>	44,3	43,6	42,6
<i>L. purpureus</i>	54,3 ^a	53,4 ^{ab}	47,5 ^b
Arbustivas			
<i>C. argentea</i>	48,3 ^a	44,6 ^{ab}	41,7 ^b
<i>C. cajan</i>	45,8 ^a	38,9 ^b	37,0 ^b
<i>G. sepium</i>	70,0 ^a	62,9 ^a	52,6 ^b
<i>M. oleifera</i>	64,7 ^a	52,7 ^b	47,8 ^b
<i>D. velutinum</i>	53,2	50,8	50,1
<i>L. leucocephala</i>	64,1 ^a	42,0 ^b	38,5 ^b
Fuente de variación	Valor p		
Especie	0,0001		
Edad rebrote	0,0001		
Especie x edad	0,01		

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas según prueba de Duncan ($p < 0,05$).

Fuente: Elaboración propia

Perfil de ácidos grasos

La concentración de AG (% MS) y los contenidos (g/kg MS) del ácido palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1) y linoleico (C18:2) variaron en función de la especie y la edad de rebrote (tabla 3). La leguminosa arbustiva *C. cajan* presentó la mayor concentración de AG (% MS) y los mayores contenidos de ácido palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) y linoleico (C18:2) en comparación con las demás especies herbáceas y arbustivas. La concentración de AG (% MS) y los contenidos de ácido palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1) y linoleico (C18:2) (g/kg MS) disminuyeron ($p < 0,05$) con la edad de rebrote en todas las especies evaluadas (tabla 3).

El efecto de la edad de rebrote en la concentración del ácido mirístico (C14:0), linolénico (C18:3) y precursores de ALC varió entre especies (tabla 3). Con el aumento de la edad de rebrote de 4 a 12 semanas, el contenido del ácido mirístico (C14:0)

disminuyó ($p < 0,05$) solo en *C. ternatea*, *P. phaseoloides*, *A. vaginalis* y *D. velutinum*. La especie herbácea *P. phaseoloides* presentó el mayor ($p < 0,05$) contenido de C14:0 a las 4 semanas de rebrote (tabla 3).

Los contenidos de ácido linolénico (C18:3) y de precursores de ALC (linoleico y linolénico) disminuyeron ($p < 0,05$) con la edad de rebrote, pero la disminución no fue similar en todas las especies. En *C. cajan* se presentó el mayor ($p < 0,05$) contenido de C18:3 a las 8 semanas de rebrote, mientras que en *C. molle*, *C. macrocarpum*, *C. cajan* y *G. sepium* el contenido de C18:3 disminuyó ($p < 0,05$) a las 12 semanas de rebrote (tabla 3).

En el forraje de *C. cajan* se presentó el mayor ($p < 0,05$) contenido de C18:3 y de precursores de ALC en las tres edades de rebrote evaluadas (tabla 3). En el forraje de *C. ternatea*, *C. molle*, *C. macrocarpum*, *C. cajan*, *G. sepium* y *M. oleifera*, el contenido de precursores de ALC disminuyó ($p < 0,05$) con la madurez (de 4 a 12 semanas) (tabla 3).

Tabla 3. Ácidos grasos en leguminosas herbáceas, leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades de corte

Especie	Edad rebrote (semanas)	AG (% MS)	Perfil de AG (g/kg MS)						
			C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	PRE
Herbáceas									
<i>C. ternatea</i>	4	2,27	1,10 ^a	9,17	1,16	0,48	2,35	3,34	5,69 ^a
	8	1,74	1,51 ^a	7,75	0,21	0,25	1,60	2,14	3,75 ^b
	12	1,46	0,42 ^b	6,71	0,24	0,27	1,65	1,43	3,09 ^b
<i>P. phaseoloides</i>	4	2,26	3,21 ^a	8,91	0,84	1,11	2,02	1,59	3,62
	8	1,58	0,87 ^b	7,43	1,07	0,48	0,88	1,00	1,88
	12	0,89	0,74 ^b	4,06	0,43	0,23	0,65	0,54	1,19
<i>C. brasiliensis</i>	4	0,88	0,15	2,96	0,54	0,13	1,34	1,54	2,89
	8	0,82	0,18	2,48	0,29	0,35	1,45	1,26	2,72
	12	0,54	0,21	2,16	0,25	0,07	0,67	0,81	1,48

(Continúa)

(Continuación tabla 3)

Especie	Edad rebrote (semanas)	AG (% MS)	Perfil de AG (g/kg MS)						
			C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	PRE
Herbáceas									
<i>C. molle</i>	4	1,73	0,61	6,04	0,59	0,66	2,83	3,23 ^a	6,06 ^a
	8	1,52	0,49	4,36	0,49	0,42	2,44	3,16 ^a	5,61 ^a
	12	0,53	0,86	1,48	0,27	0,31	0,55	0,55 ^b	1,11 ^b
<i>C. macrocarpum</i>	4	2,21	0,84	7,01	0,60	2,14	2,15	3,58 ^a	5,73 ^a
	8	1,68	0,77	5,78	0,85	1,56	1,33	2,71 ^a	4,05 ^a
	12	0,55	0,26	1,90	0,24	0,51	0,54	0,61 ^b	1,16 ^b
<i>A. vaginalis</i>	4	1,57	1,61 ^a	6,37	0,79	0,63	1,33	1,22	2,55
	8	1,34	0,50 ^b	4,17	0,72	0,21	2,85	1,72	4,57
	12	1,24	0,51 ^b	5,38	0,23	0,75	1,19	1,09	2,29
<i>L. purpureus</i>	4	1,26	0,51	5,23	0,44	0,26	1,26	1,77	3,03
	8	1,07	0,45	4,41	0,30	0,11	0,84	0,59	2,62
	12	0,72	0,27	3,72	0,37	0,10	0,54	1,46	1,13
Corte									
<i>C. argentea</i>	4	1,03	0,21	3,14	0,62	0,15	1,51	1,94	3,45
	8	0,88	0,35	3,15	0,46	0,19	1,00	1,43	2,44
	12	0,59	0,22	2,23	0,51	0,24	0,52	0,70	1,22
<i>C. cajan</i>	4	4,04	1,03	13,38	1,77	1,01	4,10	8,64 ^b	12,75 ^a
	8	3,55	1,50	9,42	1,17	0,88	2,22	11,50 ^a	13,73 ^a
	12	3,19	1,25	7,12	0,97	0,72	1,17	5,06 ^c	6,23 ^b
<i>G. sepium</i>	4	1,97	0,59	7,29	0,87	0,72	1,98	3,26 ^a	5,24 ^a
	8	1,20	0,56	5,56	0,39	0,20	0,58	1,96 ^b	2,54 ^b
	12	1,38	1,08	5,49	0,71	0,37	1,05	1,55 ^b	2,61 ^b
<i>M. oleifera</i>	4	1,58	0,44	4,69	0,87	0,44	1,76	3,55	5,31 ^a
	8	1,89	0,62	4,87	1,83	0,73	2,89	3,28	6,17 ^a
	12	0,95	0,26	2,47	1,00	0,62	1,19	1,54	2,74 ^b

(Continúa)

(Continuación tabla 3)

Especie	Edad rebrote (semanas)	AG (% MS)	Perfil de AG (g/kg MS)						
			C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	PRE
Corte									
<i>D. velutinum</i>	4	2,64	1,74 ^a	12,4	1,34	0,78	1,33	2,10	3,43
	8	2,25	1,88 ^a	10,4	1,02	0,59	1,17	1,67	2,84
	12	1,31	0,95 ^b	5,83	0,90	0,34	0,72	0,78	1,51
<i>L. leucocephala</i>	4	1,18	0,42	5,04	0,35	0,28	1,42	1,46	2,89
	8	0,75	0,36	2,36	0,51	0,24	1,04	1,18	2,23
		0,60	0,45	1,88	0,29	0,15	0,70	0,98	1,69
Valor p									
Especie		0,0001	0,0003	0,0001	0,004	0,0002	0,007	0,0001	0,0001
Edad		0,0001	0,0001	0,0001	0,01	0,01	0,0001	0,0001	0,0001
Especie x edad		0,43	0,0001	0,38	0,53	0,32	0,22	0,0005	0,01

AG = ácidos grasos, C16:0 = ácido palmítico, C18:1 = ácido oleico, C18:2 = ácido linoleico, PRE = precursores de ALC (linoleico y linolénico). Letras diferentes dentro de la columna de la misma especie indican diferencias significativas según prueba de Duncan (p<0,05).

Fuente: Elaboración propia

En un análisis por grupos de especies evaluadas, se observó que en las leguminosas herbáceas y especies arbustivas el ácido palmítico (C16:0) fue el AG predominante seguido por los ácidos linolénico (C18:3) y

linoleico (C18:2) en todas las edades de rebrote evaluadas. Sin embargo, el contenido en los precursores de ALC fue mayor en las especies arbustivas que en las leguminosas herbáceas en las tres edades de rebrote (figura 3).

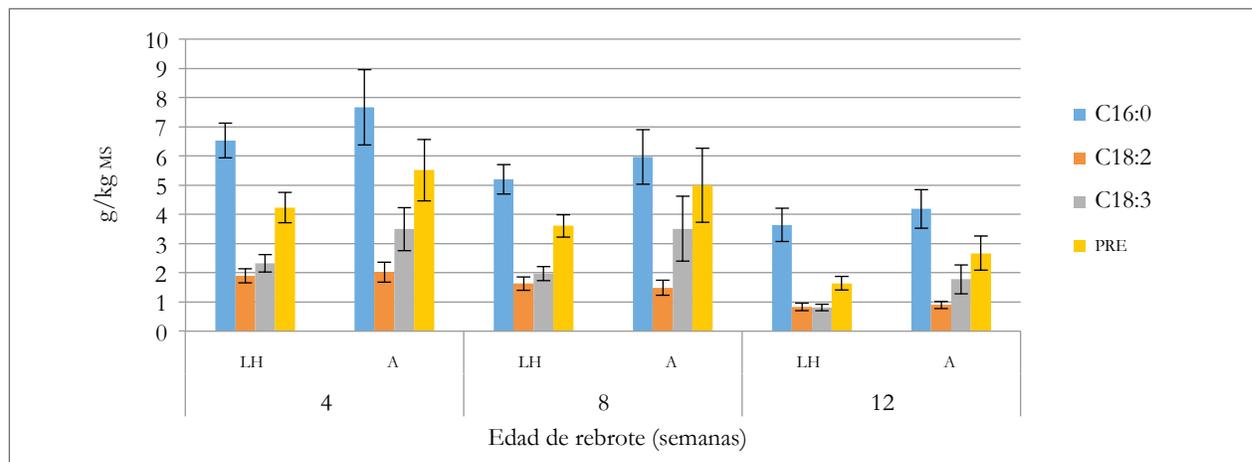


Figura 3. Concentración (hojas y tallos) de los principales ácidos grasos [palmítico C16:0, linoleico C18:2, linolénico C18:3 y precursores de ALC (PRE)] en leguminosas herbáceas (LH) y leguminosas arbustivas y no leguminosas (A) en diferentes edades de rebrote. Las barras indican error estándar.

Fuente: Elaboración propia

Discusión

En este estudio se evaluó el efecto de la edad de rebrote sobre la concentración de ácidos grasos en diferentes especies de leguminosas herbáceas, arbustivas tropicales y una especie no leguminosa con potencial de uso en sistemas de producción de doble propósito en el trópico seco colombiano.

El ácido palmítico (C16:0) en leguminosas herbáceas y especies arbustivas fue el AG predominante seguido por el ácido linolénico (C18:3) y linoleico (C18:2) a las 4 y 8 semanas de rebrote. Estos resultados difieren de otros estudios realizados en leguminosas de zonas templadas (*Trifolium repens*, *T. alexandrinum* y *Medicago sativa*), en los cuales se encontró que los principales ácidos grasos presentes fueron el linolénico (C18:3), linoleico (C18:2) y palmítico (C16:0) en todos los estados de madurez (3, 6 y 9 semanas) (Clapham et al., 2005; Khan et al., 2015).

La alta temperatura en la zona de estudio pudo tener efecto sobre la concentración del ácido palmítico (C16:0) de las especies forrajeras evaluadas. Allakhverdiev (2009), por ejemplo, encuentra que a temperaturas altas se disminuye la concentración de ácido linolénico (C18:3) y se incrementan las concentraciones del ácido palmítico (C16:0) y el ácido linoleico (C18:2) en las plantas. Al parecer, la reducción de la fluidez de las membranas es un mecanismo de adaptación de las plantas para disminuir su evapotranspiración en ambientes con altas temperaturas, que consiste en una mayor incorporación de ácidos grasos saturados, principalmente, del ácido palmítico (C16:0) (Toyes, Murillo, Espinoza, Carreun, & Palacios, 2013).

A medida que aumentó la edad de rebrote, disminuyó la concentración de AG, tanto en las leguminosas herbáceas como en las especies arbustivas, lo cual se asoció con una menor relación hoja-tallo en estas respecto de dicho aumento. Sin embargo, el efecto de la madurez sobre la concentración de ácido mirístico (C14:0), linolénico (C18:3) y de precursores de ALC no fue igual en todas las especies. El ácido linolénico (C18:3) y los precursores de ALC (linoleico y linolénico) presentaron la mayor concentración

en *C. cajan* en comparación con las otras especies evaluadas. El ácido mirístico (C14:0) presentó la mayor variación entre especies. En estudios con *T. alexandrinum* y *M. sativa*, Khan et al. (2015) encontraron que la concentración (g/kg MS) de ácido linolénico (C18:3) disminuyó con la madurez del forraje, mientras que el contenido de ácido linoleico (C18:2) solo disminuyó en *T. alexandrinum*. En otro trabajo con trébol blanco, Clapham et al. (2005) encontraron que el contenido (mg/g MS) de ácido mirístico (C14:0) aumentó y los contenidos (mg/g MS) de ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) se redujeron a medida que aumentó la madurez del forraje.

En estudios *in vitro*, Castillo et al. (2014) reportaron que la biohidrogenación del ácido linoleico (C18:2) produjo mayor acumulación en líquido ruminal de ácido transvaccénico (ATV) (precursor de la síntesis endógena de ALC en la glándula mamaria) en comparación con la biohidrogenación del ácido linolénico (C18:3). Esto sugirió que la utilización de las leguminosas herbáceas de este estudio con mayor relación C18:2/C18:3 podrían producir mayor concentración de ALC (porcentaje AG del total de AG) en la grasa de la leche en comparación con las especies arbustivas.

En el forraje de *C. cajan* se encontraron los mayores contenidos de ácido linolénico (C18:3) y de precursores de ALC (linoleico y linolénico) en todas las edades de rebrote. Esto sugirió que su uso en la alimentación de rumiantes puede incrementar la concentración de ALC en la leche, como se ha observado en estudios realizados con leguminosas en lecherías especializadas (Collomb, Bütikofer, Sieber, Jeangros, & Bosset, 2002; Höjer et al., 2012; Stypinsky et al., 2011; Wiking, Theil, Nielsen, & Sorensen, 2010). En estos sistemas se ha demostrado que cuando en la dieta hay una alta proporción de leguminosas (*Lotus corniculatus* L., *T. pratense*, *T. repens*) y diente de león (*Leontodon hispidus* L., Asteraceae), se presentan incrementos en los niveles de ALC (c9 t11) en la leche de bovinos debido a los altos contenidos de ácidos grasos poliinsaturados en el forraje (Collomb et al., 2002). De la misma forma, Höjer et al. (2012) observaron una mayor

concentración de ALC c9 t11 en la grasa de la leche de vacas Swedish Red alimentadas con ensilaje de *T. pratense*, lo cual estuvo asociado a los altos contenidos de ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) en la dieta.

Conclusiones

Los principales ácidos grasos presentes en las leguminosas herbáceas, arbustivas y no leguminosas fueron, en su orden, el ácido palmítico (C16:0), el ácido linolénico (C18:3) y el linoleico (C18:2). El contenido de ácidos grasos varió entre especies: *C. cajan* es la leguminosa que presentó los mayores contenidos de ácido palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) y linoleico (C18:2). Los cambios en la concentración de los ácidos grasos mirístico (C14:0), linolénico (C18:3) y precursores de ALC asociados con la

madurez del forraje no fueron iguales para todas las especies. La leguminosa herbácea *P. phaseoloides* presentó el mayor ($p < 0,05$) contenido de ácido mirístico C14:0 a las 4 semanas de rebrote, mientras que *C. cajan* presentó los mayores contenidos de precursores de ALC en todas las edades de rebrote evaluadas. Se postula que la inclusión de *C. cajan* en sistemas de alimentación en ganaderías de doble propósito podría generar una mayor concentración de ALC en carne y leche de rumiantes.

Descargos de responsabilidad

Los autores agradecen a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria por la financiación de este estudio, están de acuerdo con la publicación del presente artículo y declaran que no existe ningún conflicto de interés que afecten los resultados.

Referencias

- Allakhverdiev, S. I. (2009). Regulatory roles in photosynthesis of unsaturated fatty acids in membrane lipids. In H. Wada, & N. Murata (Eds.), *Lipids in photosynthesis: essential and regulatory functions* (pp. 265-282). Dordrecht, the Netherlands: Springer.
- Allen, M. S. (2000). Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 83(7), 1598-1624.
- Association of Official of Analytical Chemistry [AOAC]. (2010). *Official Methods of Analysis* (18th ed.). Maryland: AOAC International.
- Belury, M. A. (2002). Dietary conjugated acid linoleic in health: physiological effects and mechanism of action. *Annual Review of Nutrition*, 22, 505-531.
- Boufaïed, H., Chouinard, P. Y., Tremblay, G. F., Petit, H. V., Michaud, R., & Belanger, G. (2003). Fatty acids in forages. I. Factors affecting concentrations. *Canadian Journal of Animal Science*, 83(3), 501-511.
- Castillo, J. A., Olivera, M., Pabón, M. L., Ribeiro, C. V., Daza, E. E., & Carulla, J. E. (2004). *Kynetics and thermodynamics on the in vitro biohydrogenation on linoleic acid, alpha linoleic acid and their combinations*. Conference paper presented at 51st Reunión Anual de Sociedad Brasileira de Zootecnia, Barra dos Coqueiros, Brasil.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., & Doreau, M. (2001). Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science*, 70(1-2), 31-48.
- Clapham, W., Foster, G., Neel, P., & Fedders, M. (2005). Fatty acid composition of traditional and novel forages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(26), 10068-10073.
- Collomb, M., Bütikofer, U., Sieber, R., Jeangros, B., & Bosset, J. O. (2002). Correlation between fatty acids in cows' milk fat produced in the Lowlands, Mountains and Highlands of Switzerland and botanical composition of the fodder. *International Dairy Journal*, 12(8), 661-666.
- Dhiman, T. R., Anand, G. R., Satter, L. D., & Pariza, M. W. (1999). Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *Folia Biologica*, 53(4), 2146-2156.
- Dilzer, A., & Park, Y. (2012). Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52(6), 488-513.
- Elgersma, A., Ellen, G., Van Der Horst, H., Muuse, B. G., Boer, H., & Tamminga, S. (2004). Influence of cultivar and cutting date on fatty acids composition of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Grass and Forage Science*, 59, 104-105.

- Ellis, K. A., Innocent, G., Grove-White, D., Cripps, P., McLeann, W. G., Howard, C. V., & Mihm, M. (2006). Comparing the fatty acid composition of organic and conventional milk. *Journal of Dairy Science*, 89(6), 1938-1950.
- Garcés, R., & Mancha, M. (1993). One step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissue. *Analytical Biochemistry*, 211(1), 139-143.
- Glasser, F., Doreau, M., Maxin, G., & Baumont, R. (2013). Fat and fatty acid content and composition forages. *Animal Feed Science and Technology*, 185(1-2), 19-34.
- Höjer, A., Adler, S., Martinsson, K., Jensen, S. K., Steinshamm, H., Thuen, E., & Gustavsson, A. (2012). Effect of legume - grass silage and alfa - tocopherol, beta carotene and retinol concentrations in organically produced bovine milk. *Livestock Science*, 148(3), 268-281.
- Ip, C., Banni, S., Angioni, E., Carta, G., McGinley, J., Thompson, H. J., ... Bauman, D. (1999). Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *Journal of Nutrition*, 129, 2135-2142.
- Jensen, G. (2002). The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science*, 85(2), 295-350.
- Khan, N. A., Farooq, N. W., Ali, M., Suleman, M., Ahmad, N., Sulaiman, S. M., ... Hendriks, W. H. (2015). Effect of species and harvest maturity on the fatty acids profile of tropical forages. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 25(3), 739-746.
- León, J., Pabón, M., & Carulla, J. (2011). Relación entre las características de la pastura y el contenido de ácido linoleico conjugado (ALC) en la leche. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 24, 63-73.
- Loor, J. J., Soriano, F. D., Lin, X., Herbein, J. H., & Polan, C. E. (2003). Grazing allowance after the morning or afternoon milking for lactating cows fed a total mixed ration (TMR) enhances trans11-18:1 and cis9, trans11-18:2 (rumenic acid) in milk fat to different extents. *Animal Feed Science and Technology*, 109(1-4), 105-119.
- Ørskov, E. R., Deb Howell, F. D., & Mould, F. (1980). The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production*, 5(3), 195-213.
- Pariza, M. W., & Hargreaves, W. A. (1985). A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7, 12 dimethylbenz(a) antrazene. *Carcinogenesis*, 6(4), 591-593.
- SAS Institute Inc. (2011). SAS/STAT (Versión 9,3). SAS Institute: Cary, EE. UU.
- Shingfield, K. J., Bonnet, M., & Scollan, N. D. (2013). Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal*, 7(s1), 132-162.
- Steel, R., & Torrie, J. H. (1999). Correlación lineal. En R. G. D. Steel y J. H. Torrie (Eds.), *Bioestadística: principios y procedimientos* (2nd. ed., pp. 263-275). España: Mc Graw Hill.
- Stypinsky, P. (2011). The effect of grassland-based forages on milk quality and quantity [Special issue]. *Agronomy Research*, 9(2), 479-488.
- Toyes, E. A., Murillo, B. A., Espinoza, J. L., Carreun, L. P., & Palacios, A. E. (2013). Composición química y precursores de ácido vaccénico y ruménico en especies forrajeras en baja California Sur, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 4(3), 373-386.
- Van Soest, P. J., Robertson, J., & Lewis, M. (1991). Methods for dietary fiber, neutral fiber and no starch polysaccharides in relation to nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583-3597.
- Váradyová, Z., Kisidayova, S., Siroka, P., & Jalc, D. (2008). Comparison of fatty acid composition of bacterial and protozoal fractions in rumen fluid of sheep fed diet supplemented with sunflower, rapeseed and linseed oils. *Animal Feed Science and Technology*, 144(1-2), 44-54.
- Ward, A. T., Wittenberg, K. M., Froebe, H. M., Przybylski, R., & Malconlmsn, L. (2003). Fresh forage and solin supplementation on conjugated linoleic acid levels in plasma and milk. *Journal of Dairy Science*, 86(5), 1742-1750.
- White, S. L., Bertrand, J. A., Wade, M. R., Wade, M. R., Washburn, S. P., Greet, J. T., & Jenkins, T. C. (2001). Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein Cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, 84(10), 2295-2301.
- Wiking, L., Theil, P., Nielsen, J., & Sorensen, M. (2010). Effect of grazing fresh legumes or feeding silage on fatty acids and enzymes involved in the synthesis of milk fat in dairy cows. *Journal of Dairy Research*, 77(3), 337-342.
- Yamasaki, M., Kishihara, K., Ikeda, I., Sugano, M., & Yamada, K. (1999). A recommended esterification method for gas chromatographic measurement of conjugated linoleic acid. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(8), 933-938.