

Characterization of *in situ* ruminal degradability of dry matter in new varieties of drought tolerant *Cenchrus purpureus*

Caracterización de la degradabilidad ruminal *in situ* de la materia seca de nuevas variedades de *Cenchrus purpureus*, tolerantes a la sequía

J. L. Ledea¹, O. La O² and J. V. Ray¹

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias "Jorge Dimitrov". Estación Experimental de Pastos y Forrajes, km 10½,
Carretera Bayamo-Tunas. Bayamo, Granma, Cuba

²Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba
Email: ledea@dimitrov.cu

Two Creole cows, 450 ± 10 kg live weight, cannulated in rumen were used, with the purpose of studying the kinetics of *in situ* ruminal degradability of dry matter of leaves and stems of new varieties of drought tolerant *Cenchrus purpureus* (CT-601, CT-603 and CT-605) obtained by tissue culture at different regrowth ages (60, 80, 100 and 120 d). For that, they were introduced in duplicate bags in the rumen for 0, 4, 6, 8, 12, 24, 48 and 72 h. The results of the ruminal fermentation were fitted to the exponential equation $(a + b) * (1 - e^{(-k*t)})$. For ages 60, 80 and 100 d, the CT-603 had the highest degradability of the potentially degradable fraction ($a + b$) of the leaves dry matter, with 81.2, 97.8 and 77.5 %, respectively. For 120 d, was the CT-605 which showed better performance of this fraction, with 84.7%. For the stems, at 60 d, the CT-605 showed 94.6% degradation of the fraction $a + b$, while the CT-601 and CT-603, at 80 d, showed values of this fraction of 75.2 and 75.1 %, respectively. For 100 and 120 d, CT-601 and CT-603, with 59.7 and 88.8 %, respectively, were highlighted. The protein tenors began to decrease below 7% from 80 d of regrowth. For DM degradability in leaves and stems, each variety showed values that exceeded 50% degradation. It is recommended using the ages of 80 and 100 d, in both botanical fractions, to supply ruminants.

Key words: *Cenchrus purpureus*, ruminal degradability, *Pennisetum purpureum*, botanical fractions

As a family, Poaceas are more tolerant to warm environments. Among them, *Cenchrus* genus, known as *Pennisetum purpureum* until Chemisquy *et al.* (2010) showed by the use of morphological, atomic techniques and their combination that the *Cenchrus* genus absorbs the *Pennisetum* and *Odontelytrum* genus. They are known to be very efficient plants, because they have the C3 and C4 photosynthetic pathways. They also highlight as being which provide better response in the synthesis of organic compounds at high temperatures, relative humidity, transpiration, evaporation, between other climatic variables (Vázquez and Torres 2007).

Specifically in Cuba, as in other tropical and subtropical countries, climate variation and rainfall distribution, mainly, influence on the quality and productivity of grasses and forages that are used for animal feeding, which is a limitation in most of the livestock systems (Pérez 2013). To stabilize the forage

Se utilizaron dos vacas criollas, de 450 ± 10 kg de peso vivo, canuladas en rumen, con el propósito de estudiar la cinética de la degradabilidad ruminal *in situ* de la materia seca de hojas y tallos de nuevas variedades de *Cenchrus purpureus* (CT-601, CT-603 y CT-605), obtenidas por cultivo de tejido, tolerantes a la sequía en diferentes edades de rebrote (60, 80, 100 y 120 d). Para ello, se introdujeron por duplicado las bolsas en el rumen durante 0, 4, 6, 8, 12, 24, 48 y 72 h. Los resultados de la fermentación ruminal se ajustaron a la ecuación exponencial $(a + b) * (1 - e^{(-k*t)})$. Para las edades de 60, 80 y 100 d, el CT-603 presentó la mayor degradabilidad de la fracción potencialmente degradable ($a+b$) de la materia seca en hojas, con 81.2, 97.8 y 77.5 %, respectivamente. Para los 120 d, fue el CT-605 el que mostró mejor comportamiento de esta fracción, con 84.7 %. Para los tallos, a los 60 d, el CT-605 mostró 94.6 % de degradación de la fracción $a+b$, mientras que el CT-601 y CT-603, a los 80 d, presentaron valores de esta fracción de 75.2 y 75.1 %, respectivamente. Se destacaron, para los 100 y 120 d, las variedades CT-601 y CT-603, con 59.7 y 88.8 %, respectivamente. Los tenores de proteína comenzaron a disminuir a partir de los 80 d, por debajo de 7 %. Para la degradabilidad de la MS en hojas y tallos, cada variedad presentó valores que superaron 50 % de degradación. Se recomienda utilizar las edades de 80 y 100 d, en ambas fracciones botánicas, para suministrar a los rumiantes.

Palabras clave: *Cenchrus purpureus*, degradabilidad ruminal, *Pennisetum purpureum*, fracciones botánicas.

Como familia, las Poaceas son las más tolerantes a ambientes cálidos. Entre ellas, el género *Cenchrus*, conocido como *Pennisetum purpureum*, hasta que Chemisquy *et al.* (2010) demostraron mediante el uso de técnicas morfológicas, atómicas y su combinación que el género *Cenchrus* absorbe al género *Pennisetum* y *Odontelytrum*. Se conocen por ser plantas muy eficientes, ya que poseen los senderos fotosintéticos C3 y C4. Se destacan además por ser las que mejor respuesta brindan en la síntesis de compuestos orgánicos ante altas temperaturas, humedad relativa, transpiración, evaporación, entre otras variables climáticas (Vázquez y Torres 2007).

Específicamente en Cuba, como en el resto de los países tropicales y subtropicales, la variación del clima y la distribución de las precipitaciones, fundamentalmente, influyen en la calidad y productividad de los pastos y forrajes que se utilizan para la alimentación animal, lo que constituye una limitación en la mayoría de los sistemas ganaderos (Pérez 2013).

production in Cuba, specially in the dry season, in the 2000s begins the program of obtaining *Cenchrus purpureus* cultivars, from CT-115. As a result of this program, drought tolerant clones were obtained. Herrera (2000), when carry out the molecular characterization of these plants, by the electrophoretic determination of more than five isoenzymatic systems, showed that were varieties. This was reaffirmed because those varieties maintained their initial characteristics for more than five generations.

In agronomic studies performed in the eastern region of Cuba, the new drought tolerant varieties (CT-601, CT-603 and CT-605) surpassed its ancestor in the agronomic response (Díaz 2007, Almaguer 2012, Arias 2012). The evaluation of these varieties was conducted in ecosystems degraded by the intense seasonal drought, characteristic of the Cauto Valley, where 90 % of livestock production in eastern Cuba (Fajardo & Carbonell 2008) is developed.

Due to the structural characteristics of the cell wall, grasses do not exceed 50 % of ruminal degradation (Cáceres 1985, Ramírez 2010), stimulated by the accumulation of structural carbohydrates that, depending on the effect of climatic variables and their combination, they will be used as power source or deposited in the cell wall with structural function (Fortes 2014), in the form of cellulose, hemicellulose and lignin. Then, they were converted into lignocellulosic compounds (Valenciaga 2007), which retard the ruminal degradation process.

Palma and Landi (2012) reported that the degradation process of dry matter is one of the indicators assumed as favorable response in the effectiveness of the enzymatic hydrolysis or enzyme-substrate combination. This process suggests the degradation level, microbial efficiency and the sufficient of junction points for the enzymatic action, which is a basic principle for microbial efficiency, from the histological characteristics of the substrate (Martínez *et al.* (2002). According to Valenciaga (2007), the high fiber contents of Poaceas reduce the junction points. Furthermore, they are involved in the enzymatic combination (Martínez *et al.* 2002), which make difficult the process of microbial adherence to the active centers and produce saturation effect because they are occupied.

The objective of this study was to characterize the *in situ* ruminal degradability and the degradation dynamics of dry matter, contained in leaves and stems of new varieties of *C. purpureus*, drought tolerant at different regrowth ages, obtained by tissues culture.

Materials and Methods

Experimental procedure. The study was conducted in the Estación Experimental de Pastos y Forrajes, belonging to the Instituto de Investigaciones Agropecuarias "Jorge Dimitrov" from Granma

Para estabilizar la producción de forrajes en Cuba, sobre todo en la estación de pocas precipitaciones, en la década del 2000 comienza el programa de obtención de cultivares de *Cenchrus purpureus*, a partir del CT-115. Como resultado de este programa, se obtuvieron clones tolerantes a la sequía. Herrera (2000), al realizar la caracterización molecular de estas plantas, mediante la determinación electroforética de más de cinco sistemas isoenzimáticos, demostró que eran variedades. Esto se reafirmó al mantener estas variedades sus características iniciales durante más de cinco generaciones.

En los estudios agronómicos realizados en la región oriental de Cuba, las nuevas variedades tolerantes a la sequía (CT-601, CT-603 y CT-605) superaron a su progenitor en la respuesta agronómica (Díaz 2007, Almaguer 2012, Arias 2012). La evaluación de estas variedades se realizó en ecosistemas degradados por la intensa sequía estacional, característica del Valle del Cauto, donde se desarrolla 90 % de la producción ganadera del oriente de Cuba (Fajardo & Carbonell 2008).

Por las características estructurales de la pared celular, las gramíneas no sobrepasan 50 % de degradación ruminal (Cáceres 1985, Ramírez 2010), estimuladas por la acumulación de carbohidratos estructurales que, en dependencia del efecto de las variables climáticas y su combinación, serán utilizados como fuente de energía o depositados en la pared celular con función estructural (Fortes 2014), en forma de celulosa, hemicelulosa y lignina. Luego, se convierten en complejos lignocelulósicos (Valenciaga 2007), que retardan el proceso de degradación ruminal.

Palma y Landi (2012) refieren que el proceso de degradación de la materia seca es uno de los indicadores asumidos como respuesta favorable en la efectividad de la hidrólisis enzimática o en el acoplamiento sustrato-enzima. Este proceso sugiere el nivel de degradación, la eficiencia microbiana y la suficiencia de puntos de unión para la acción enzimática, que es un principio base para la eficiencia microbiana, a partir de las características histológicas del sustrato (Martínez *et al.* (2002). Según Valenciaga (2007), los altos contenidos de fibra de las Poaceas reducen los puntos de unión. Además, intervienen en el acoplamiento enzimático (Martínez *et al.* 2002), lo que dificulta el proceso de adherencia microbiana a los centros activos y produce un efecto de saturación, al estar ocupados los centros activos (Pedraza 2014).

El objetivo de este estudio fue caracterizar la degradabilidad ruminal *in situ* y la dinámica de degradación de la materia seca, contenida en hojas y tallos de las nuevas variedades de *C. purpureus*, tolerantes a la sequía en diferentes edades de rebrote, obtenidas por cultivo de tejidos.

Materiales y Métodos

Procedimiento experimental. El estudio se desarrolló en la Estación Experimental de Pastos y Forrajes, perteneciente al Instituto de Investigaciones

province. This facility is located in Cauto plains, 10 ½ km from Bayamo city. The plant material is originate from the seed bank, established five years ago in 200 m² plots, composed of 10 furrows, spaced at 1 and 0.75 m between plants. For the banks establishment, the department of Pastos y Forrajes from the Instituto de Ciencia Animal provided the seeds.

At the moment of sampling in each furrow, the ages to be evaluated (60, 80, 100 and 120 d) were distributed in an intercropped way. The furrows were fractionated into subplots, 4.50 m linear, with four repetitions and one meter of border effect at the beginning and end of each furrow, conditions that were due to an agronomic study which was performed in unison. Taking advantage of this design, they were taken from each repetition five plants in each regrowth age, for a total of four samples for 60 d (three for 80 and 100 d, and two for 120 d). In each sample, 300 g were taken in green basis of each botanical fraction (leaves and stems) that was removed with stainless scissors. Subsequently, these fractions were homogenized in dry basis to determine the chemical composition and *in situ* ruminal degradability. Then, they were dried in a forced air oven (MEMMERT brand) at 100 °C for one hour and then, at 60 °C until reaching constant weight, as recommended by Lezcano and Gonzalez (2000). Finally, in a knife mill, they were reduced to 2 mm to determine the *in situ* ruminal degradability (100 g), and at 1 mm to determine the chemical composition (200 g). The cultivar used was *Cenchrus purpureus*, specifically the varieties CT-601 CT-603 and CT-605.

It was fertilized with organic matter of bovine origin, at a rate of 25 t ha⁻¹ during establishment cut. For this, a wheelbarrow was weighed and it was filled with the corresponding amount, depending on the area and fertilizer dose to be use. During the filling process of the wheelbarrow, the spades with the desired weight were counted. Then, this fertilizer was applied along the furrow. The weighing of the wheelbarrow with organic matter was performed only once. Then, with the number of spades that reached the desired weight, it was proceeded to apply the fertilizer to the rest of furrows.

Chemical composition. The residual dry matter content of (rDM), organic matter (OM), crude protein (CP) and neutral detergent fiber (NDF) in leaves and stems was estimated using Goering and van Soest (1970) techniques, AOAC (2012).

Statistical analysis. The statistical procedures were performed, according to completely randomized design with four repetitions. The normality of data was checked by the Kolmogorov-Smirnov test (Massey 1951) and means were compared by multiple Keuls test (1952), for each regrowth age in each variety.

In situ ruminal degradability. For the evaluation of *in situ* ruminal degradability, two Creole cows cannulated in rumen (450 ± 10 kg live weight) were

Agropecuarias "Jorge Dimitrov" de la provincia Granma. Esta instalación se ubica en la llanura del Cauto, a 10 ½ km de la ciudad de Bayamo. El material vegetal provino del banco de semillas, establecido hace cinco años en parcelas de 200 m², compuestas por diez surcos, separados a 1 m y 0.75 m entre plantas. Para el establecimiento de los bancos, el departamento de Pastos y Forrajes del Instituto de Ciencia Animal proporcionó las semillas.

En el momento en que se tomaron las muestras, en cada surco se habían distribuido, de forma intercalada, las edades a evaluar (60, 80, 100 y 120 d). Los surcos se fraccionaron en subparcelas, de 4.50 m lineales, con cuatro repeticiones y un metro de efecto de borde al comienzo y final de cada surco, condiciones que obedecían a un estudio agronómico que se realizaba al unísono. Aprovechando este diseño, se tomaron de cada repetición cinco plantas en cada edad de rebrote, para un total de cuatro muestreos para los 60 d (tres para 80 y 100 d, y dos para 120 d). En cada muestreo, se tomaron 300 g en base verde de cada fracción botánica (hojas y tallos) que se separó con tijera de acero inoxidable. Posteriormente, estas fracciones se homogenizaron en base seca para determinar la composición química y degradabilidad ruminal *in situ*. Posteriormente, se sometieron a secado en estufa de aire forzado (marca MEMMERT) a 100 °C durante una hora y después, a 60 °C hasta alcanzar peso constante, según lo recomendado por Lezcano y González (2000). Por último, en un molino de cuchillas, se redujeron a 2 mm para determinar la degradabilidad ruminal *in situ* (100 g), y a 1 mm para determinar la composición química (200 g). El cultivar utilizado fue el *Cenchrus purpureus*, específicamente las variedades CT-601, CT-603 y CT-605.

Se fertilizó con materia orgánica de origen bovino, a razón de 25 t.ha⁻¹ durante el corte de establecimiento. Para ello, se taró una carretilla y se llenó con la cantidad correspondiente, en función del área y dosis de fertilizante a utilizar. Durante el proceso de llenado de la carretilla, se contaron las palas con las que se alcanzó el peso deseado. Luego, se aplicó este fertilizante a lo largo del surco. El pesaje de la carretilla con la materia orgánica se realizó solo una vez. Luego, con el número de palas que llegaba al peso deseado, se procedió a aplicar la fertilización al resto de los surcos.

Composición química. Se estimó el contenido de materia seca residual (MSr), materia orgánica (MO), proteína bruta (PB) y fibra neutro detergente (FND) en hojas y tallos mediante las técnicas de Goering y van Soest (1970), AOAC (2012).

Análisis estadístico. Se realizaron los procedimientos estadísticos, según diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones. La normalidad de los datos se comprobó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov (Massey 1951) y las medias se compararon según la prueba múltiple de Keuls (1952), para cada edad de rebrote en cada variedad.

Degradabilidad ruminal *in situ*. Para la evaluación de

used which receives forage grasses ad libitum, with free access to water and mineral salts .Five grams of sample were weighed per polyethylene bag. The samples had particle size of 2 mm. After having found the uniformity of the internal dimensions using a millimeter ruler and an electron microscope (Microscope Model N-800M with camera HDCE-50 B) which allowed to determine the size and quantity of pores.cm², uniform dimensions were found for all bags (14.0 cm long x 8.5 cm wide internal dimensions, 48 µm porosity and 1044 pores.cm²). Then, they were washed and dried in an oven (BINDER brand) at 60 °C for one hour and weighed on an analytical balance (SARTORIUS brand) of 0.001 g precision to determine the weight of each of the bags included in the experiment. Finally, they were grouped per organ to introduce them in the rumen and doubled for each sampling time and animal. Leaves samples were fermented first, and stems samples at seven days. This interval corresponded to a resting time for the animal. The bags all together were introduced into the rumen for ruminal fermentation and extracted at 0, 4, 6, 8, 12, 24, 48 and 72 h. Each bag was hand washed with running water till water was clear once extracted from the rumen. Later, they were placed in aluminum trays and dried in an oven (BINDER brand) at 60 °C for 72 h. Then, they were transferred to a desiccator for 30 minutes and proceed to weighing. The difference between the initial weight of the sample placed in the nylon bags and the residue weight, after ruminal incubation, was used to determine the degraded DM in the rumen. The solubility at zero hour was obtained when incubating two bags with each food in the rumen for 15 minutes and then they were treated like the rest.

The estimate of ruminal degradation was performed using the interactive process MARQUARDT algorithm, using the procedure for non-linear models PROC NLIN from the Statgraphics Centurion software (Stat Point Technologies 2010). The exponential model proposed by Ørskov and McDonald (1979) was used to estimate the degradative characteristics. It was assumed that the degradation curve of the DM in the time followed a first order kinetic process, described as follows:

$$P=A \quad \text{for } t_0 = 0$$

$$(a+b)*(1-e^{(-c*t)}) \quad t > t_0 \quad \text{Where:}$$

P: Is the ruminal degradation of the evaluated indicator in the staying time t in the rumen.

a: Intercept (soluble fraction, if time is not limiting).

b: degradable fraction, if time is not limiting(t).

c: degradation rate of fraction (b).

t: incubation time .

a+b: Potential degradation

A: easily soluble fraction.

The rapidly soluble fraction is obtained in several ways. In this study it was determined by introducing

la degradabilidad ruminal *in situ*, se utilizaron dos vacas criollas canuladas en rumen (450 ± 10 kg de peso vivo) que recibían forraje de gramíneas ad libitum, con libre acceso al agua y sales minerales. Se pesaron 5g de muestra por bolsa de polietileno. Las muestras tenían tamaño de partícula de 2 mm. Después de haber constatado la uniformidad de las dimensiones internas mediante una regla milimetrada y un microscopio electrónico (Microscope modelo N-800M con cámara HDCE-50 B) que permitió determinar el tamaño y cantidad de poros.cm² se constataron dimensiones uniformes para todas las bolsas (14.0 cm de largo x 8.5 cm de ancho de dimensiones internas, 48 µm de porosidad y 1044 poros.cm²). Luego, se lavaron y secaron en estufa (marca BINDER) a 60 °C durante una hora y se pesaron en una balanza analítica (marca SARTORIUS) de 0.001 g de precisión para determinar la tara de cada una de las bolsas incluidas en el experimento. Por último, se agruparon por órgano para introducirlas en el rumen y se duplicaron para cada horario de muestreo y animal. Las muestras de hojas se fermentaron primero, y las muestras de tallos a los siete días. Este intervalo correspondió a un tiempo de reposo para el animal. Las bolsas se introdujeron todas juntas para la fermentación ruminal y se extrajeron a las 0, 4, 6, 8, 12, 24, 48 y 72 h. Cada bolsa se lavó a mano con agua corriente hasta que el agua salió transparente una vez que se extrajeron del rumen. Posteriormente, se depositaron en bandejas de aluminio y se secaron en una estufa (marca BINDER) a 60 °C, durante 72 h. Luego, se transfirieron a una desecadora durante 30 min. y se procedió al pesado. La diferencia entre el peso inicial de la muestra colocada en las bolsas de nailon y el peso del residuo, después de la incubación ruminal, se utilizó para determinar la MS degradada en el rumen. La solubilidad a la hora cero se obtuvo al incubar dos bolsas con cada alimento en rumen durante 15 min. y después se trataron igual que al resto.

La estimación de la degradación ruminal se realizó mediante el proceso interactivo del algoritmo de MARQUARDT, con ayuda del procedimiento para modelos no lineales PROC NLIN del software Statgraphics Centurion (Stat Point Technologies 2010). Para la estimación de las características degradativas se utilizó el modelo exponencial propuesto por Ørskov y McDonald (1979). Se asumió que la curva de degradación de la MS en el tiempo siguió un proceso cinético de primer orden, descrito como sigue:

$$P=A \quad \text{para } t_0 = 0$$

$$(a+b)*(1-e^{(-c*t)}) \quad t > t_0 \quad \text{donde:}$$

P: Es la degradación ruminal del indicador evaluado en el tiempo t de permanencia en el rumen.

a: Intercepto (fracción soluble, si el tiempo no es limitante).

b: Fracción degradable, si el tiempo no es limitante(t).

c: Tasa de degradación de la fracción (b).

t: Tiempo de incubación.

a+b: Potencial de degradación

A: Fracción rápidamente soluble.

the bag in the rumen, allowing the ruminal fluid to penetrate inside. Then it was suddenly extracted and continued the procedure described for the *in sacco* degradability.

Results and Discussion

Table 1 shows the chemical composition of leaves and stems of new varieties of *C. purpureus* in study. Only significant differences ($p \leq 0.05$) were obtained in protein tenors at the age of 60 d, effect which is given by the variety. These differences are due to the crossbreeding from the use of biotechnological tools, with the objective of achieving genetic variability, as reported by Ramírez (2010) because *Cenchrus spp* planting in Cuba came from the same genetic pattern. The crude protein values obtained in the CT-603 and CT-605 were higher to those reported by Dórea *et al.* (2013) in the elephant silage, and as reported by Leo *et al.* (2012) in 11 tropical plants. They also exceeded the Loyola *et al.* (2015) results in natural grasses for both seasons, and those who reported Montiel *et al.* (2011) in grain sorghum. However, they were lower than Silva *et al.* (2011). Requires special attention the low crude protein content of the CT-601 for 60 d, as well as the decrease of concentration of this metabolite, from the 80 d of age for all varieties.

According to Minson (1990), tenors lower than 7 % not allow the efficient and complete use of the forage carbohydrates, so degradability could be affected by this concept. This is an aspect that should be considered for the cultivation of new varieties in the vertisol of Cauto Valley, which need to supply some protein food that provides to the microorganisms enough nitrogen for the development of the cellulolytic microflora, and the subsequent degradation of highly fibrous content.

The high tenors of NDF are due to the low nitrogen content, as Dominguez *et al.* (2012) referred. These authors stated that when there are low levels of nitrogen soluble carbohydrates synthesized are used, to be deposited in the cell wall as structural compounds. This thickness of these walls is increased, which makes little rough succulent this structure. This effect can affect the palatability and choice of food.

In the parameters of the *in situ* ruminal degradability of dry matter in leaves, the fraction *a* values ranged between -4.07 and 28.69 %, represented by the variety CT-603 and CT-605 respectively, there were high variability during the ages and varieties studied (table 2, figure 1). These values were lower than those reported by Pedraza (2000) in botanical fractions composed of leaves + petioles of *Gliricidia sepium* varieties and those of Valenciaga *et al.* (2001) in *Cenchrus purpureus* leaves. They were also below from those reported by Valenciaga (2007) in CT-115 (21.06-30.0%) and by Ferreira *et al.* (2014) (26.9-30.7%), who inoculated with three different strains (Enterococcus and Streptococcus JB1 and HC5)

La fracción rápidamente soluble se obtiene de varias maneras. En este estudio se determinó mediante la introducción de la bolsa en el rumen, dejando que penetrara el líquido ruminal en su interior. Luego se extrajo súbitamente y se prosiguió con el procedimiento descrito para la degradabilidad *in sacco*.

Resultados y Discusión

En la tabla 1 se muestra la composición química de hojas y tallos de las nuevas variedades de *C. purpureus* en estudio. Solo se obtuvieron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en los tenores de proteínas en la edad de 60 d, efecto que está dado por la variedad. Estas diferencias obedecían al cruzamiento a partir del uso de herramientas biotecnológicas, con el objetivo de lograr la variabilidad genética, según informes de Ramírez (2010) porque la siembra de *Cenchrus spp* en Cuba provenía del mismo patrón genético. Los valores de proteína bruta obtenidos en el CT-603 y CT-605 fueron superiores a los referidos por Dórea *et al.* (2013) en el capim-elefante ensilado, y a lo informado por León *et al.* (2012) en 11 plantas tropicales. También superaron los resultados de Loyola *et al.* (2015) en pastos naturales para ambas estaciones climáticas, y a los que informaron Montiel *et al.* (2011) en granos de sorgo. Sin embargo, fueron inferiores a los de Silva *et al.* (2011). Demanda especial atención el bajo contenido de proteína bruta del CT-601 para los 60 d, así como la disminución de la concentración de este metabolito, a partir de los 80 d de edad para todas las variedades.

Según Minson (1990), tenores inferiores a 7 % no permiten la utilización eficiente y completa de los carbohidratos del forraje, por lo que la degradabilidad podría afectarse por este concepto. Este es un aspecto que se debe tener en cuenta para el cultivo de las nuevas variedades en el suelo vertisol del Valle del Cauto, que necesita el suministro de algún alimento proteico que ofrezca a los microorganismos la fuente de nitrógeno suficiente para el desarrollo de la microflora celulolítica, y la consiguiente degradación de contenido altamente fibroso.

Los altos tenores de FND se deben al contenido bajo de nitrógeno, según refirieron Domínguez *et al.* (2012). Estos autores afirmaron que cuando existen bajos niveles de nitrógeno se utilizan los carbohidratos solubles sintetizados, para ser depositados en la pared celular como compuestos estructurales. Con ello se incrementa el grosor de estas paredes, lo que hace poco suculenta y áspera esta estructura. Este efecto puede afectar la palatabilidad y elección del alimento.

En los parámetros de la degradabilidad ruminal *in situ* de la materia seca en hojas, los valores de la fracción *a* oscilaron entre -4.07 y 28.69 %, representados por la variedad CT-603 y CT-605 respectivamente, hubo alta variabilidad durante las edades y variedades estudiadas (tabla 2, figura 1). Estos valores fueron inferiores a los informados por Pedraza (2000) en fracciones botánicas compuesta por hojas + peciolos de variedades de

Table 1. Chemical composition of leaves and stems of *C. purpureus* varieties at different regrowth ages

Chemical Constituents (%)	Regrowth age						Varieties					
	60			80			100			120		
	601	603	605	±SE	601	603	605	±SE	601	603	605	±SE
Leaves												
residual DM	90.9	88.2	89.8	2.2	90.5	89.4	90.4	1.6	90.5	90.9	90.6	1.9
CP(N x 6.25)	6.8 ^b	10.4 ^a	9.5 ^a	0.4	7.5	6.5	6.7	1.3	6.3	5.8	6.2	0.9
NDF	75.1	73.1	72.7	1.5	75.3	74.6	74.9	1.7	78.1	76.3	75.9	2.1
Stems												
residual DM	89.4	88.9	90.2		89.7	89.1	90.3	2.1	89.9	89.8	90.4	3.5
±SE	0.9	0.9	1.15									90.3
CP(N x 6.25)	6.3	6.6	6.9		4.5	3.7	5.3		2.8	3.1	3.9	1.07
±SE	1.3	1.3	1.5		0.7	0.9	0.7					0.5
NDF	76.3	76.5	78		78.6	77.7	78.6	0.6	79.4	80.1	80.1	3.6
±SE	0.8	0.9	1.1									80.9
												2.5

^{a,b,c} Letters with different superscripts in a same line differ at $p \leq 0.05$ according to Keuls (1952)

for processing as silage. They were similar to those of Silva *et al.* (2011) (21.9-28.6%), who added vinasse for their fermentation. Valenciaga (2007) and Trujillo *et al.* (2009) agreed that changes in the cell wall stimulated the variability of the results obtained in their researchers, which were in correspondence with the differences between the evaluated ages.

The fraction *b* had a similar performance to the

Gliricidia sepium, y a los de Valenciaga *et al.* (2001) en hojas de *Cenchrus purpureus*. También estuvieron por debajo de los informados por Valenciaga (2007) en CT-115 (21.06-30.0 %) y por Ferreira *et al.* (2014) (26.9-30.7 %), quienes los inocularon con tres cepas diferentes (*Enterococcus* y *Streptococcus* JB1 y HC5) para procesarlos como ensilajes. Fueron semejantes a los de Silva *et al.* (2011) (21.9-28.6 %), quienes

Table 2. *In situ* ruminal degradability of dry matter in leaves of *C. purpureus* new varieties, drought tolerant with different regrowth ages

Age (days)	Variety	a (%)	b (%)	a+b (%)	c (%/hours)	R ²	ESE (%)
60	601	18.27	28.80	47.07	0.033	96.2	7.4
	603	-4.07	85.37	81.29	0.053	99.2	9.1
	605	21.35	50.16	71.51	0.039	98.8	7.1
80	601	17.42	45.97	63.39	0.026	98.1	8.1
	603	13.06	84.82	97.89	0.037	98.5	13.4
	605	6.044	54.04	60.08	0.045	97.7	11.6
100	601	11.27	47.48	58.76	0.027	92.2	13.7
	603	28.35	49.24	77.59	0.008	85.1	15.6
	605	19.44	35.11	54.56	0.038	98.5	5.5
120	601	23.03	41.66	64.69	0.047	98.1	7.5
	603	1.566	29.24	30.80	0.071	98.9	3.2
	605	28.69	56.08	84.77	0.0121	85.3	22.2

(a+b): potential degradation calculated by model $a+b*(1-e^{(-c*t)})$

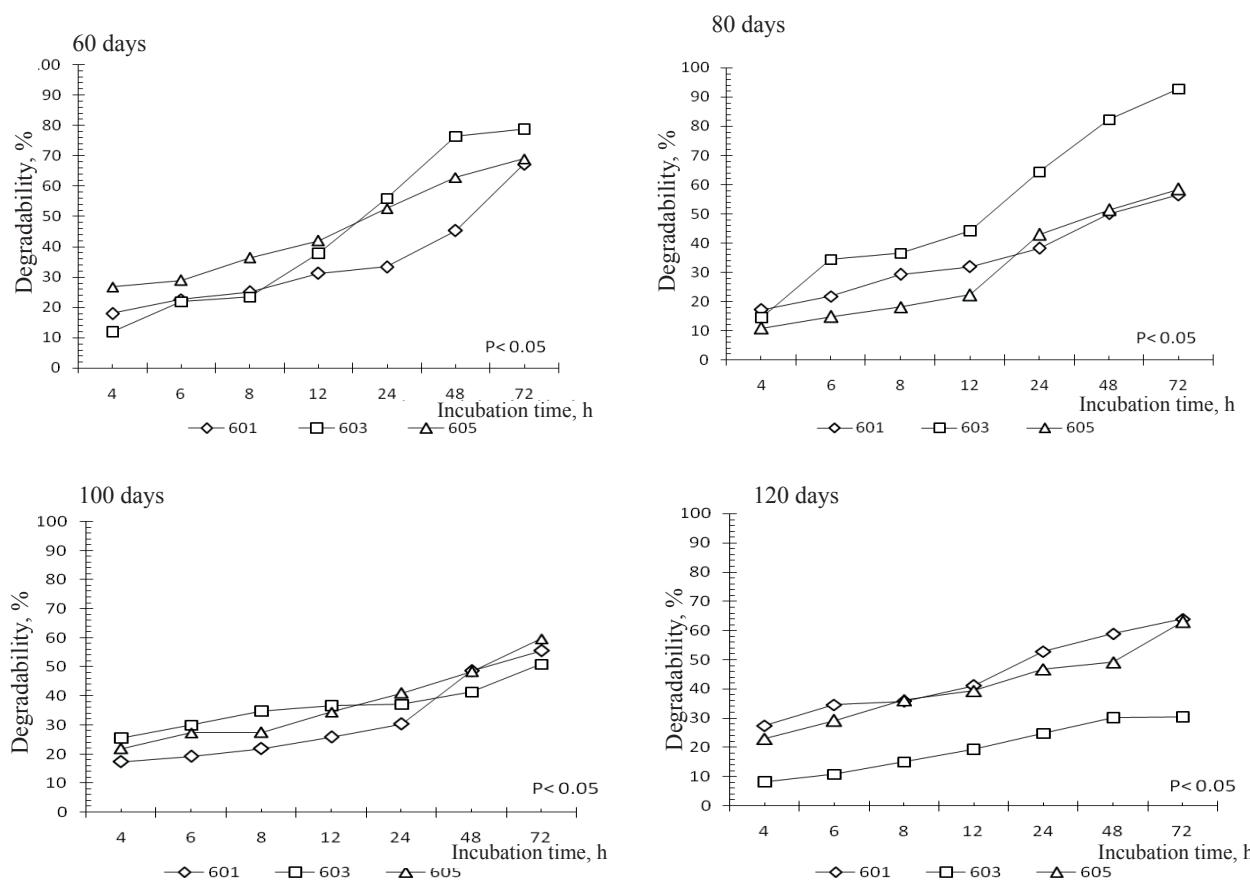
a: soluble fraction

b: degradable fraction

c: degradation rate

 R^2 : determination coefficient

SSE: Estimation standard error

Figure 1. Dynamics of the *in situ* ruminal degradability of the dry matter of leaves of *C. purpureus* new varieties at the ages 60, 80, 100 and 120 d

soluble fraction, but with ranges of 28.8 to 85.3 %, which were higher than those obtained by Pedraza (2000) (37.4-48.06%), Valenciaga *et al.* (2001) (4.7-47.4%) and Valenciaga (2007) (34.05-39.8%). Also they exceeded those reported by Cárdenas (2013). However, they were lower than Debela *et al.* (2011), in leaves of the variety *Sesbania sesban* and *Desmodium intortum* in southern Nigeria. However, the result of a + b was between 47.07 and 97.89 %, which manifested a higher performance than reported by Valenciaga *et al.* (2001), who obtained only 75.8 % degradation of this fraction. Also exceeded Valenciaga *et al.* (2006) results, when evaluating the resting time of the CT-115 and its effect on ruminal degradability of the lignocellulosic compound. These authors obtained for the characteristics of DM degradation at 95 d of age values much lower than those of this research.

The results presented in table 2 were above to those reported by Lara *et al.* (2010) in *Dichanthium aristatum* at different regrowth ages, and those informed by Valles *et al.* (2016), who grouped the *Cenchrus* genus and regrowth ages to evaluate their performance in the ruminal degradability of dry matter. Likewise, they were also better than Montiel *et al.* (2011), when evaluating the DM degradability of seeds of different sorghum hybrids, with minimum and maximum percentage values of 28.6-34.7, respectively. However, they were lower than those reported by Debela *et al.* (2011).

In Cuba, the nutritional assessments that have been made to different varieties and clones of the *Cenchrus* genus (King grass, Mott, Taiwan, Merkerón, CT, CRA and CIAT) by Herrera *et al.* (1990) and Fernández *et al.* (2001) have showed DMD values between 50 and 60 %, range which coincides with that obtained in the new *C. purpureus* varieties drought-tolerant, and with those reported by Minson (1990). According to the opinion of this author, this result is due to the complex structure of these varieties and the relations established between them as the age is advancing, stimulated by the effect of climate and growth. According to Minson (1981), Barahona and Sanchez (2005) tropical grasses hardly exceed 50 % of ruminal degradability.

In the kinetics of DM degradation of leaves of the varieties under study, can be observed different exponential performances. After 12h, there was a lag of kinetics. CT-603 was the best for 60 and 80 d of age and CT-605 and CT-601 were the best for 100 and 120 d of age with 95 % of reliability. In this regard, Palma and Landi (2012) stated that the ruminal degradability of DM is one of the indicators assumed as favorable response in the effectiveness of the enzymatic hydrolysis, that is, the substrate-enzyme combination, in correspondence with which produce methane, as an end product of fermentation of structural carbohydrates (Beauchemin *et al.*

adicieron vinaza para su fermentación. Valenciaga (2007) y Trujillo *et al.* (2009) coincidieron en que las modificaciones en la pared celular estimularon la variabilidad de los resultados obtenidos en sus investigaciones, que estuvieron en correspondencia con las diferencias entre las edades evaluadas.

La fracción b tuvo un comportamiento semejante a la fracción soluble, pero con rangos de 28.8 a 85.3 %, que resultaron superiores a los obtenidos por Pedraza (2000) (37.4-48.06 %), Valenciaga *et al.* (2001) (4.7-47.4 %) y Valenciaga (2007) (34.05-39.8 %). También superaron los referidos por Cárdenas (2013). Sin embargo, fueron inferiores a los de Debela *et al.* (2011), en hojas de la variedad *Sesbania sesban* y *Desmodium intortum* en el sur de Nigeria. Sin embargo, el resultado de a + b estuvo entre 47.07 y 97.89 %, por lo que manifestó un comportamiento superior al informado por Valenciaga *et al.* (2001), quienes obtuvieron solo 75.8 % de degradación de esta fracción. Además superó los resultados de Valenciaga *et al.* (2006), al evaluar el tiempo de reposo del CT-115 y su efecto en la degradabilidad ruminal del complejo lignocelulósico. Estos autores obtuvieron para las características de la degradación de la MS a los 95 d de edad valores muy inferiores a los de este trabajo.

Los resultados expuestos en la tabla 2 estuvieron por encima de los referidos por Lara *et al.* (2010) en *Dichanthium aristatum* a diferentes edades de rebrote, y de los informados por Valles *et al.* (2016), quienes agruparon al género *Cenchrus* y edades de rebrote para evaluar su comportamiento en la degradabilidad ruminal de la materia seca. Asimismo, fueron mejores que los de Montiel *et al.* (2011), cuando evaluaron la degradabilidad de la MS de semillas de diferentes híbridos de sorgo, con valores porcentuales mínimos y máximos de 28.6-34.7, respectivamente. Sin embargo, fueron inferiores a los que informaron Debela *et al.* (2011).

En Cuba, las evaluaciones nutritivas que se han hecho a diferentes variedades y clones del género *Cenchrus* (King grass, Mott, Taiwan, Merkerón, CT, CRA y CIAT) por Herrera *et al.* (1990) y Fernández *et al.* (2001), han arrojado valores de DMS entre 50 y 60 %, rango que coincide con lo obtenido en las nuevas variedades de *C. purpureus* tolerantes a la sequía, y con lo referido por Minson (1990). Según el criterio de este autor, este resultado se debe a la compleja estructura que poseen estas variedades y a las relaciones que se establecen entre ellas conforme avanza la edad, estimuladas por el efecto del clima y el crecimiento. De acuerdo con informes de Minson (1981), Barahona y Sánchez (2005), por las características antes citadas, las gramíneas tropicales difícilmente sobrepasan 50 % de degradabilidad ruminal.

En la cinética de degradación de la MS de hojas de las variedades en estudio, se pueden observar diferentes comportamientos exponenciales. A partir de las 12 h, hubo un desfasaje de la cinética. Para la edad de 60 y 80 d, se destacó el CT-603, y para las edades de 100 y 120 d, el CT-605 y CT-601 con 95% de confiabilidad. Al respecto,

2008).

These results exceed those of Valenciaga *et al.* (2001), who stated that from 48 h of incubation there was not exponential performance of degradability. Similar results obtained Pedraza (2000) in different botanical fractions of Jupiter (*Gliricidia sepium*). Benavides *et al.* (2012) also reported a response in the dynamic of DM degradation in forage maize, from 24h, which was lower than in this study. This shows that the tissues of new varieties favor the microbial action early, mainly hydrolytic microorganisms (aminolytic and cellulolytic) which, according to Martínez *et al.* (2002), they are the first to actuate on the substrates present in the rumen. And then they are adding to rest of microorganisms from chemotaxis and established symbiosis.

Stems, in its degradation kinetics, showed irregular values in the different fractions of DM (table 3, figure 2).The *a* values were between 6.7-26.37 %, provided by the CT-603 and CT-605 varieties. These results were higher than those obtained by Martínez *et al.* (2002) and Valenciaga *et al.* (2009), very favorable effect if it considers that the histochemical structure of stems make difficult that they easily broken during mastication process. The vascular bundles, to be formed and protected by tracheae and tracheids, lignified cells and fused to the esclerenquimatosos rings, with little protoplast, and often do without it, give it more strength

Palma y Landi (2012) afirmaron que la degradabilidad ruminal de la MS es uno de los indicadores asumidos como respuesta favorable en la efectividad de la hidrólisis enzimática, o sea, el acoplamiento sustrato-enzima, en correspondencia con el que se produce metano, como producto final de la fermentación de los carbohidratos estructurales (Beauchemin *et al.* 2008).

Estos resultados superan los de Valenciaga *et al.* (2001), quienes constaron que a partir de las 48 h de incubación no hubo comportamiento exponencial de la degradabilidad. Resultados similares obtuvo Pedraza (2000) en diferentes fracciones botánicas de Júpiter (*Gliricidia sepium*). Benavides *et al.* (2012) también notificaron una repuesta en la dinámica de degradación de la MS en maíz forrajero, a partir de las 24 h, que fue inferior a la de este estudio. Esto demuestra que los tejidos de las nuevas variedades propician la acción microbiana de forma temprana, principalmente los microorganismos hidrolíticos (aminolíticos y celulolíticos) que, según Martínez *et al.* (2002), son los primeros en accionar sobre los sustratos presentes en el rumen. Y luego se van sumando el resto de los microorganismos a partir del quimiocatáxis y de la simbiosis establecida.

Los tallos, en su cinética de degradación, mostraron valores irregulares en las diferentes fracciones de la MS (tabla 3, figura 2). Los valores de *a* estuvieron entre 6.7-26.37 %, aportados por las variedades CT-603 y CT-605. Estos resultados fueron superiores a los obtenidos por Martínez *et al.* (2002) y Valenciaga *et al.* (2009), efecto

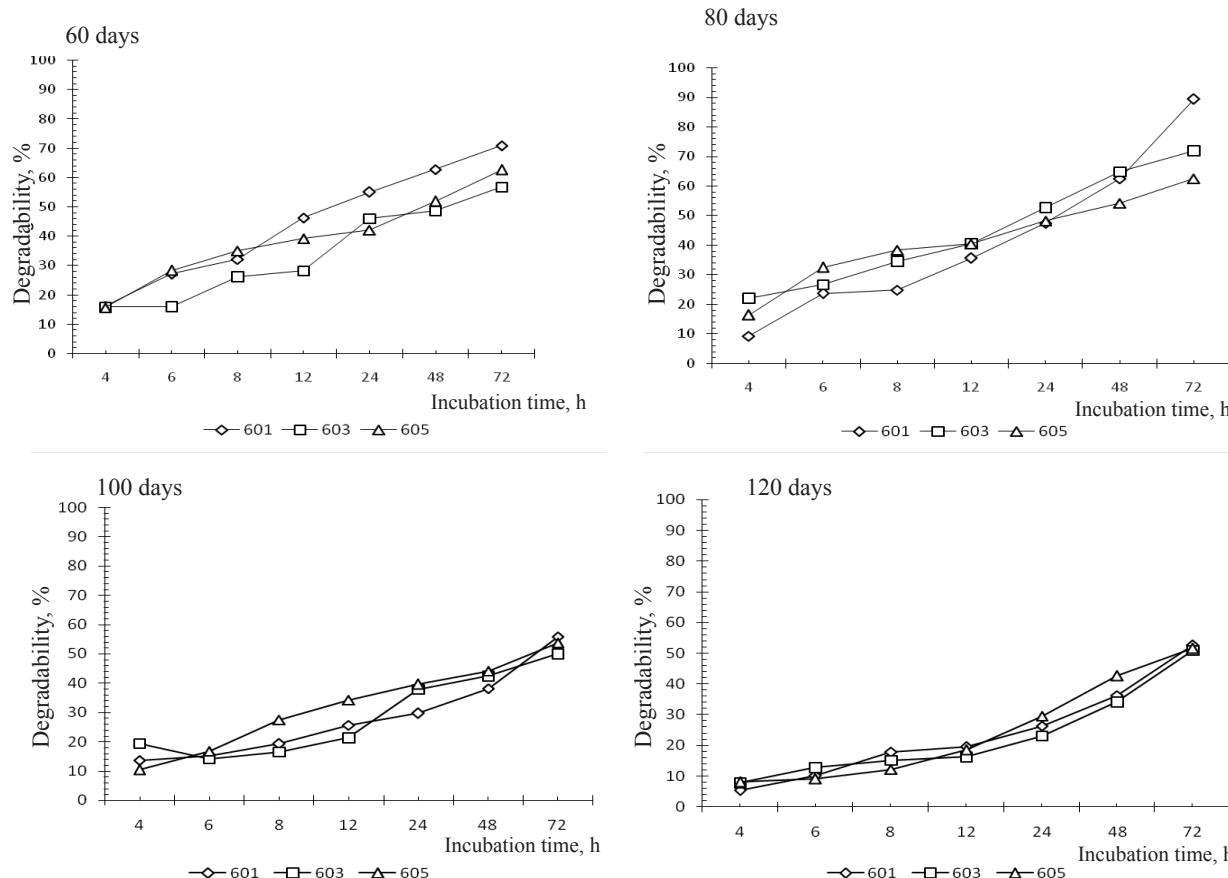


Figure 2. Dynamics of the *in situ* ruminal degradability of dry matter of stems of *C. purpureus* new varieties, at the ages 100 and 120 d

to the stem (Perez 2013).

The fraction *b* had high degradability percentages, ranging between 48.96 and 68.28%, higher values than those reported by Debela *et al.* (2011), who referred to stems of *Sesbania sesban* and *Desmodium intortum* values of 44.5 and 41.5 % respectively, caused, according to these authors, by lignin tenors. However, Pérez (2013) reported for tropical grasses lower amount of lignin than for legumes, but their distribution in the plant causes lower use than in Fabaceas, which stimulated degradation rates from 1.1 %.h (CT-605, 60 d) to 5.1%.h (CT-603, 60 d). These degradation percentages are lower than those obtained by Debela *et al.* (2011), due to the characteristics of the cells of this organ in this variety. Pérez (2013) stated that the stems have two to three thicker and lignified cell walls than the leaves.

The fraction *a + b* was favored by the high degradative action of fraction *b*, which allowed degradation ranges between 50.92 and 94.66 %. These results were higher than the 52.7 % reported by Martínez *et al.* (2002) in forage sorghum, and those obtained by La O *et al.* (2006), when evaluating the stem of six varieties of creeping legumes with different ruminal replacement constants.

In the degradation dynamics, the ages of 60 and 80 d were the ones that showed the best performance in the dry matter degradation, without subjectively suggesting that the ages of 100 and 120 d showed wrong performance, although they show the effects of the age on microbial activity. These results coincide with those obtained by Naranjo (2002), Soto *et al.* (2005) and Ferreira *et al.* (2014), and they were higher to those of Galindo *et al.* (2014), who evaluated the foliage of shrub grasses and obtained higher activity at 8h after incubating the samples. These authors reported that the presence of secondary metabolites may have influenced on the time of colonization, a criterion that coincides with that of Pedraza (2014), who understands the presence of these compounds as a barrier that affects the colonization process.

Although in the tropical grasses the presence of secondary metabolites is not reported as a chemical barrier that can affect rumen degradability, it must be taken into account. Leda (2015), in Cuba, in an area of the Cauto Valley from Granma province, degraded by intense drought, identified by phytochemical screening in leaves of *Cenchrus* vc. CT-115 free amino acids, alkaloids, coumarins and anthocyanidins in the ethanolic extract, while in the aqueous only applied for moderate presence of flavonoids and bitter principles. In the state of Rio, in Nigeria, Okaraonye and Ikewuchi (2009) identified cyanogenic glycosides, oxalates, phosphates, saponins, tannins, alkaloids, tannins and flavonoids in the same genus. Therefore, it is possible that not only the effect of chemical composition and transformations in the structure and

muy favorable si se tiene en cuenta que la estructura histoquímica de los tallos dificulta que se rompan con facilidad durante el proceso de la masticación. Los haces vasculares, al estar constituidos y protegidos por tráqueas y traqueidas, células lignificadas y fusionadas a los anillos esclerenquimatosos, con escaso protoplasto, y que en muchas ocasiones prescinden de él, le aportan mucho más resistencia mecánica al tallo (Pérez 2013).

La fracción *b* tuvo altos porcentajes de degradabilidad, con rangos entre 48.96 y 68.28 %, valores superiores a los referidos por Debela *et al.* (2011), quienes refirieron para tallos de *Sesbania sesban* y *Desmodium intortum* valores de 44.5 y 41.5 % respectivamente, provocados, según estos autores, por los tenores de lignina. Sin embargo, Pérez (2013) refirió para las gramíneas tropicales menor cantidad de lignina que para las leguminosas, pero su distribución en la planta provoca que se aproveche menos que en las Fabaceas, lo que estimuló tasas de degradación desde 1.1 %.h (CT-605, 60 d) hasta 5.1%.h (CT-603, 60 d). Estos porcentajes de degradación resultan inferiores a los obtenidos por Debela *et al.* (2011), debido a las características de las células de este órgano en esta variedad. Pérez (2013) declaró que los tallos presentan de dos a tres paredes celulares más gruesas y lignificadas que las hojas.

La fracción *a+b* estuvo favorecida por la alta acción degradativa de la fracción *b*, que posibilitó rangos de degradación entre 50.92 y 94.66 %. Estos resultados fueron superiores al 52.7 % informado por Martínez *et al.* (2002) en sorgo forrajero, y a los obtenidos por La O *et al.* (2006), al evaluar el tallo de seis variedades de leguminosas rastreras con diferentes constantes de recambio ruminal.

En la dinámica de la degradación, las edades de 60 y 80 d fueron las que mejor comportamiento mostraron en la degradación de la materia seca, sin sugerir subjetivamente que las edades de 100 y 120 d mostraron mal comportamiento, aunque sí manifestaron los efectos de la edad en la actividad microbiana. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Naranjo (2002), Soto *et al.* (2005) y Ferreira *et al.* (2014), y fueron superiores a los de Galindo *et al.* (2014), quienes evaluaron el follaje de gramíneas arbustivas y obtuvieron mayor actividad a la hora 8 después de incubadas las muestras. Estos autores refirieron que la presencia de metabolitos secundarios pudo haber influido en el tiempo de colonización, criterio que coincide con el de Pedraza (2014), quien entiende la presencia de estos compuestos como una barrera que afecta el proceso de colonización.

Aunque en las gramíneas tropicales la presencia de metabolitos secundarios no está informada como una barrera química que puede afectar la degradabilidad ruminal, se debe de tener en cuenta. Leda (2015), en Cuba, en una zona del Valle del Cauto de la Provincia de Granma, degradada por la intensa sequía, identificó mediante tamizaje fitoquímico en hojas de *Cenchrus* vc. CT-115 aminoácidos libres, alcaloides, coumarinas y antocianidinas en el extracto etanólico, mientras que en el acuoso solo aplicó para presencia moderada de flavonoides y principios

morphology of the evaluated organs influenced on the lateness of the ruminal microorganisms colonization, but that could be secondary metabolites synthesized by these plants. This is due, above all, to the environment influence, so it is recommended to deepen into this line of research.

For the genus, variety, and organ, degradability is affected by the morphological and histological characteristics of the cell wall, which are accentuated as age advances, as an inherent process of growth that is increased by the incidence of climate. However, Cáceres (1985) stated that not always the nutritive value of a grass decreases as the age advances. In his studies, this author obtained differences between the tenors of dry matter, protein and fiber, not so for organic matter and crude energy. However, the results of this study demonstrate a performance that coincides with those reported by Ramírez (2010), when evaluating four tropical grasses in the Cauto Valley, where there were observed deterioration of agronomic, chemical and nutritional performance, as the age of the plant increased.

It is concluded that the new varieties of *C. purpureus* evaluated (CT-601, CT-603 and CT-605) show the ruminal fermentation pattern of tropical grasses, but with low crude protein content, in leaves and stems in evaluated ages. In both organs, 50% of degradation was exceeded, with evolution in the degradative dynamics that surpassed 72 h, decreasing at 120 d in the studied fractions.

It is recommended the introduction of new varieties into livestock production flows, so that they can be used for grazing, from 80 to 100 d, and at 80 to 120 d, as forage. It is necessary their association with shrub or herbaceous legumes to improve the chemical quality of biomass.

Acknowledgments

Thanks to Fidel Monteagudo and Juan Cairo, of Ruminants and Physiology Departments from the Institute of Animal Science, respectively, and to Dr. S. Daiky Valenciaga, for their support and collaboration during the development of the experimental stage.

amargos. En el estado de Río, en Nigeria, Okaraonye y Ikewuchi (2009) identificaron en este mismo género glucósidos cianogénicos, oxalatos, fosfatos, saponinas, taninos, alcaloides, taninos y flavonoides. Entonces, es posible que no solo el efecto de la composición química y transformaciones en la estructura y morfológica de los órganos evaluados influyeran en el retardo de la colonización de los microorganismos ruminantes, si no que pudieran existir metabolitos secundarios sintetizados por estas plantas. Esto se debe, sobre todo, a la influencia del medio ambiente, por lo que se recomienda profundizar en esta línea de investigación.

Para el género, variedad, y órgano en cuestión, la degradabilidad se afecta por las características morfológicas e histológicas de la pared celular, que se acentúan conforme avanza la edad, como proceso inherente del crecimiento que se incrementa por la incidencia del clima. No obstante, Cáceres (1985) planteó que no siempre el valor nutritivo de un pasto disminuye conforme avanza la edad. En sus estudios, este autor obtuvo diferencias entre los tenores de materia seca, proteínas y fibra, no así para la materia orgánica y energía bruta. Sin embargo, los resultados de este estudio demuestran un comportamiento que coincide con el informado por Ramírez (2010), al evaluar cuatro gramíneas tropicales en el Valle del Cauto, donde observó deterioro del comportamiento agronómico, químico y nutritivo, a medida que se incrementó la edad de la planta.

Se concluye que las nuevas variedades de *C. purpureus* evaluadas (CT-601, CT-603 y CT-605) manifiestan el patrón de fermentación ruminal de las gramíneas tropicales, pero con bajos contenidos de proteína bruta, en hojas como en tallos en las edades evaluadas. En ambos órganos, se superó 50 % de degradación, con evolución en la dinámica degradativa que trascendió las 72 h, pero que disminuyó para los 120 d en las fracciones estudiadas.

Se recomienda la introducción de nuevas variedades en los flujos productivos ganaderos, de modo que sean utilizadas en pastoreo, desde los 80 hasta los 100 d, y a las edades de 80 a 120 d se puedan utilizar como forraje. Es necesaria su asociación con leguminosas arbustivas o herbáceas que mejoren la calidad química de la biomasa.

Agradecimientos

Se agradece a Fidel Monteagudo y Juan Cairo, de los Departamentos de Rumiantes y Fisiología del Instituto de Ciencia Animal, respectivamente, y a la Dra. C. Daiky Valenciaga, por su apoyo y colaboración durante el desarrollo de la etapa experimental.

References

- Almaguer, R. 2012. Evaluación del establecimiento de variedades de *Pennisetum purpureum* resistentes a la sequía en condiciones de premontaña. Graduated Thesis, Universidad de Granma, Granma, Cuba, 46 p.
- AOAC. 2012. Official Methods of Analysis of AOAC International. 19th ed., Gaithersburg, Md.: AOAC International, ISBN: 978-0-935584-83-7, Available: <http://www.amazon.com/Official-Methods-Analysis-OFFICIAL-ANALYSIS/dp/0935584838/ref=pd_sim_sbs_14_1?ie=UTF8&dpID=31iiKCxL2L&dpSrc=sims&preST=_AC_UL160_SR160%2C160_&refRID=101AB94246X0EM9N7XMW>, [Consulted: April 1, 2016].
- Arias, R. C. 2012. Frecuencias de corte en cultivares promisorios de *Pennisetum purpureum* resistentes a la sequía con riego y

- fertilización orgánica. M.Sc. Thesis, Universidad de Granma, Granma, Cuba, 91 p.
- Barahona, R. R. & Sánchez, P. S. 2005. "Limitaciones físicas y químicas de la digestibilidad de pastos tropicales y estrategias para aumentarla". Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 6(1): 69–82, ISSN: 0122-8706.
- Beauchemin, K. A., Kreuzer, M., O'Mara, F. & McAllister, T. A. 2008. "Nutritional management for enteric methane abatement: a review". Australian Journal of Experimental Agriculture, 48(1–2): 21–27, ISSN: 0816-1089.
- Benavides, G. Á., Morán, C. J. C., Cisne, C. J., García, M. D., Martínez, C. D., Rocha, M. L. & Mendieta, A. B. G. 2012. "Potencial forrajero del teocintle anual (*Zea nicaraguensis* ILTIS & BENZ)". La Calera, 12(19): 81–85, ISSN: 1998-8850.
- Cáceres, O. 1985. Estudio de los principales factores que afectan el valor nutritivo de las gramíneas forrajeras tropicales en Cuba. Ph.D. Thesis, Universidad de Matanzas, Matanzas, Cuba, 72 p.
- Cárdenas, M. 2013. Efecto de la composición botánica sobre la dinámica de degradabilidad ruminal de la MS y PC en praderas presentes en la región de Los Ríos. Graduated Thesis, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile, 66 p.
- Chemisquy, M. A., Giussani, L. M., Scataglini, M. A., Kellogg, E. A. & Morrone, O. 2010. "Phylogenetic studies favour the unification of *Pennisetum*, *Cenchrus* and *Odontelytrum* (Poaceae): a combined nuclear, plastid and morphological analysis, and nomenclatural combinations in *Cenchrus*". Annals of Botany, 106(1): 107–130, ISSN: 0305-7364, 1095-8290, DOI: 10.1093/aob/mcq090.
- Debela, E., Tolera, A., Eik, L. O. & Salte, R. 2011. "Nutritive value of morphological fractions of *Sesbania sesban* and *Desmodium intortum*". Tropical and subtropical agroecosystems, 14(3): 793–805, ISSN: 1870-0462.
- Díaz, D. 2007. Evaluación agronómica de nuevas variedades *Pennisetum purpureum* en condiciones de sequía el Valle del Cauto. M.Sc. Thesis, Universidad de Matanzas, Matanzas, Cuba, 89 p.
- Domínguez, G. T. G., Ramírez, L. R. G., Estrada, C. A. E., Scott, M. L. M., González, R. H. & Alvarado, M. del S. 2012. "Importancia nutrimental en plantas forrajeras del matorral espinoso tamaulipeco". Ciencia UANL, 15(59): 77–93, ISSN: 1405-9177.
- Dórea, J. R. R., Oliveira, J. S., Santos, E. M., Zanine, A. D. M., da Silva, T. C., Danés, M. D. A. C., Franco, A. L. C., Gouvêa, V. N. de & Mizubuti, I. Y. 2013. "Cinética de degradação ruminal de silagem de capim-elefante com diferentes níveis de jaca e raspa de mandioca". Semina: Ciências Agrárias, 34(5): 2437, ISSN: 1679-0359, 1676-546X, DOI: 10.5433/1679-0359.2013v34n5p2437.
- Fajardo, R. H. & Carbonell, C. J. 2008. "La innovación tecnológica en la producción pecuaria en la provincia de Granma: una necesidad impostergable". Revista Granma Ciencia, 12(1), ISSN: 1027-975x.
- Fernández, J. L., Benítez, D. E., Gómez, I., Cordoví, E. & Leonard, I. 2001. "Growth dynamics of Brachiariaradicansvc. Tanner under edaphic and climatic conditions of Cauto valley in Granma province". Cuban Journal of Agricultural Science, 35(4): 399–405, ISSN: 2079-3480.
- Ferreira, D. J., Zanine, A. M., Lana, R. P., Ribeiro, M. D., Alves, G. R. & Mantovani, H. C. 2014. "Chemical composition and nutrient degradability in elephant grass silage inoculated with *Streptococcus bovis* isolated from the rumen". Anais da Academia Brasileira de Ciências, 86(1): 465–474, ISSN: 1678-2690, DOI: 10.1590/0001-37652014112312.
- Fortes, D. 2014. Comportamiento de algunos indicadores morfofisiológicos y de calidad de *Pennisetum purpureum* vc. CT-115 utilizado como banco de biomasa. Ph.D. Thesis, Instituto de Ciencia Animal, Mayabeque, Cuba, 100 p.
- Galindo, J., González, N., Marrero, Y., Sosa, A., Ruiz, T., Febles, G., Torres, V., Aldana, A. I., Achang, G., Moreira, O., Sarduy, L. & Noda, A. C. 2014. "Effect of tropical plant foliage on the control of methane production and *in vitro* ruminal protozoa population". Cuban Journal of Agricultural Science, 48(4): 359–364, ISSN: 2079-3480.
- Goering, H. K. & van Soest, P. J. 1970. Forage Fiber Analyses (apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications). (ser. Agriculture handbook, no. ser. 379), Washington, D. C.: U.S. Agricultural Research Service, 24 p., OCLC: 795928287, Available: <https://books.google.co.uk/books/about/Forage_Fiber_Analyses_apparatus_Reagents.html?id=yn8wAAAAAYAAJ>, [Consulted: August 3, 2016].
- Herrera, R. S. 2000. Obtención de plántulas de *Pennisetum purpureum* con resistencia a la sequía y salinidad mediante técnicas biotecnológicas. Informe final de proyecto. Informe final de proyecto, no. 300083, La Habana, Cuba: CITMA-ICA.
- Herrera, R. S., Martínez, R. O., Cruz, R. & Monzote, M. 1990. "Obtención de mutantes en pastos mediante el empleo de técnicas nucleares". In: Plant mutation breeding for crop improvement: proceedings of an International Symposium on the Contribution of Plant Mutation Breeding to Crop Improvement, Viena, Austria: International Atomic Energy Agency, pp. 141–142, ISBN: 978-92-0-010091-8, Available: <<https://www.amazon.com/Plant-Mutation-Breeding-Crop-Improvement/dp/9200100910?ie=UTF8&SubscriptionId=0JRA4J6WAV0RTAZVS6R2&camp=2025&creative=165953&creativeASIN=9200100910&linkCode=xm2&tag=worldcat-20>>, [Consulted: August 3, 2016].
- Keuls, M. 1952. "The use of the 'studentized range' in connection with an analysis of variance". Euphytica, 1(2): 112–122, ISSN: 0014-2336, 1573-5060, DOI: 10.1007/BF01908269.
- La O, O., Chongo, B., Delgado, D., Ruiz, T. E., Solís, M. A. & Ruiz, O. 2006. "Variabilidad en ceniza, fibra detergente neutro, nitrógeno total y degradabilidad ruminal de seis leguminosas tropicales". Cuban Journal of Agricultural Science, 40(3): 309–313, ISSN: 2079-3480.
- Lara, M. C., Oviedo, Z. L. E. & Betancur, H. C. A. 2010. "Efecto de la época de corte sobre la composición química y degradabilidad ruminal del pasto *Dichanthium aristatum* (Angleton)". Zootecnia Tropical, 28(2): 275–282, ISSN: 0798-7269.
- Ledeña, R. J. L. 2015. "Tamizaje fitoquímico a una variedad de *Pennisetum purpureum*". Revista Granma Ciencia, 9(2), ISSN: 1027 - 975X.
- León, G. M., Martínez, S. S. J., Pedraza, O. R. M. & González, P. C. E. 2012. "Indicadores de la composición química y digestibilidad *in vitro* de 14 forrajes tropicales". Revista Producción Animal, 24(1), ISSN: 0258 -6010.
- Lezcano, O. & González, R. 2000. Manual para la Evaluación de Alimentos de Consumo Animal. La Habana, Cuba: EDICA, 88 p.

- Loyola, H. O., Triana, G. D., Valido, T. A., Curbelo, R. L. & Guevara, V. R. 2015. "Calidad de pastos naturales en áreas ganaderas sobre un núcleo ultramáfico". Revista Producción Animal, 27(1), ISSN: 2224-7920.
- Martínez, R., Zorrilla, J. M., Palma, J. M. & González, A. 2002. "Evaluación del rendimiento, composición química y digestibilidad *in situ* de Gandul (*Cajanus cajan*) en diferentes edades de crecimiento". Pastos y Forrajes, 25(2): 115–122, ISSN: 0864-0394.
- Massey, F. J. 1951. "The Kolmogorov-Smirnov Test for Goodness of Fit". Journal of the American Statistical Association, 46(253): 68–78, ISSN: 0162-1459, 1537-274X, DOI: 10.1080/01621459.1951.10500769.
- Minson, D. J. 1981. "Nutritional differences between tropical and temperate pastures". In: Morley, F. H. W. (ed.), Grazing Animals (World Animal Science), Amsterdam: Elsevier Scientific, ISBN: 978-0-444-41835-7, Available: <http://www.betterworldbooks.com/grazing-animals-id-0444418350.aspx&utm_source=Affiliate&utm_campaign=Text&utm_medium=booklink&utm_term=3630151&utm_content=Homepage>, [Consulted: August 4, 2016].
- Minson, D. J. 1990. Forage in ruminant nutrition. Academic Press, 520 p., ISBN: 978-0-12-498310-6, Available: <https://books.google.com.cu/books/about/Forage_in_ruminant_nutrition.html?id=eAcqAQAAQAAJ&redir_esc=y>, [Consulted: August 4, 2016].
- Montiel, M. D., Elizalde, J. C., Santini, F. & Giorda, L. 2011. "Características físicas y químicas del grano de sorgo: Relación con la degradación ruminal en bovinos". Archivos de Zootecnia, 60(231): 533–541, ISSN: 0004-0592, 1885-4494.
- Naranjo, H. 2002. "Evaluación nutricional del pasto kikuyo a diferentes edades de corte". DespertarLechero, 20: 150–167, ISSN: 0123-2096.
- Okaraonye, C. C. & Ikewuchi, J. C. 2009. "Nutritional and antinutritional components of *Pennisetum purpureum* (Schumach)". Pakistan Journal of nutrition, 8(1): 32–34, ISSN: 1680-5194.
- Ørskov, E. R. & McDonald, I. 1979. "The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage". The Journal of Agricultural Science, 92(2): 499, ISSN: 0021-8596, 1469-5146, DOI: 10.1017/S0021859600063048.
- Palma, P. F. & Landi, H. G. 2012. "Enzimas fibrolíticas: una alternativa para incrementar la utilización de pared celular por rumiantes". FAVE: Sección Ciencias Veterinarias, 11(1–2): 71–80, ISSN: 1666-938X.
- Pedraza, C. D. 2014. Evaluación de la actividad enzimática de aislamientos microbianos celulolíticos y lignolíticos, y su aplicación en la degradación de tamo de arroz (*Oryza sativa*). M.Sc. Thesis, Universidad Nacional de Colombia, Colombia, 100 p.
- Pedraza, R. 2000. Valoración nutritiva del follaje de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunt ex Walp. y su efecto en el ambiente ruminal. Ph.D. Thesis, Instituto de Ciencia Animal, Mayabeque, Cuba, 116 p.
- Pérez, I. F. 2013. Ganadería Eficiente. Bases Fundamentales. La Habana, Cuba: Asociación Cubana de Producción Animal, 434 p., ISBN: 978-959-307-045-4.
- Ramírez, J. L. 2010. Rendimiento y calidad de cinco gramíneas en el Valle del Cauto. Ph.D. Thesis, Instituto de Ciencia Animal, Mayabeque, Cuba, 97 p.
- Silva, T. M., Araújo, G. G. L., Oliveira, R. L., Dantas, F. R., Bagaldo, A. R., Menezes, D. R., Garcez, N. A. F. & Ferreira, G. D. G. 2011. "Degradabilidade ruminal e valor nutritivo da maniçoba ensilada comníveis do resíduo vitivinícola". Archivos de Zootecnia, 60(229): 93–103, ISSN: 0004-0592.
- Soto, C., Valencia, A., Galvis, R. D. & Correa, H. J. 2005. "Efecto de la edad de corte y del nivel de fertilización nitrogenada sobre el valor energético y proteico del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*)". Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 18(1): 17–26, ISSN: 0120-0690.
- StatPoint Technologies 2010. StatgraphicsCenturion. (ser. Centurion), version 16.1 (XV), [Windows], Available: <<http://statgraphics-centurion.software.informer.com/download/>>.
- Trujillo, A. I., Marichal, M. de J., Guerra, M. H. & Soca, P. 2009. "Estudio de caso: degradabilidad de la materia seca y nitrógeno del lotus (*Lotus subbiflorus*) cv. El Rincón en tres cortes primaverales". Revista Argentina de Producción Animal, 29(1): 1–11, ISSN: 0326-0550.
- Valenciaga, D. 2007. Caracterización química y estructural de las paredes celulares de *Pennisetumpupureumvc*. CUBA CT-115 y su degradabilidadruminal en búfalos de río. Ph.D. Thesis, Instituto de Ciencia Animal, Mayabeque, Cuba, 106 p.
- Valenciaga, D., Chongo, B., Herrera, R. S., Torres, V., Oramas, A. & Herrera, M. 2009. "Effect of regrowth age on *in vitro* dry matter digestibility of *Pennisetum purpureum* cv. CUBA CT-115". Cuban Journal of Agricultural Science, 43(1): 79–82, ISSN: 2079-3480.
- Valenciaga, D., Chongo, B. & La O, O. 2001. "Characterization of *Pennisetum* CUBA CT-115 clone. Chemical composition and rumen DM degradability". Cuban Journal of AgriculturalScience, 35(4): 349–354, ISSN: 2079-3480.
- Valenciaga, D., La O, O., Chongo, B. & Oramas, A. 2006. "Effect of the resting time on the rumen degradation *in situ* of the lignocellulosic compound and the *in vitro* gas production of the clone Cuba CT-115 (*Pennisetum purpureumsp.*)". Cuban Journal of Agricultural Science, 40(1): 71–81, ISSN: 2079-3480.
- Valles, de la M. B., Castillo, G. E. & Bernal, B. H. 2016. "Rendimiento y degradabilidad ruminal de materia seca y energía de diez pastos tropicales cosechados a cuatro edades". Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, 7(2): 141–158, ISSN: 2448-6698.
- Vázquez, B. E. & Torres, G. S. 2007. "Nutrición mineral". In: Fisiología Vegetal, La Habana, Cuba: Félix Varela, pp. 164–167, ISBN: 978-959-07-0578-6.