

Avances en la investigación en la variación del valor nutricional de procedencias de *Trichanthera gigantea* (Humboldt et Bonpland) Nees.

Mauricio Rosales y Clara I. Ríos

CIPAV

Fundación Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria

Carrera 35A Oeste # 3B66, Cali, Colombia. A. A: 20591.

Tel: (57) (2) 5542309, 5542294. Fax: (57) (2) 5542300

Bmail: cipav@cipav.org.co

I. INTRODUCCIÓN

El nacedero (*Trichanthera gigantea*, H & B) de la familia *Acantacea*, es un árbol multipropósito promisorio para una amplia gama de agroecosistemas. Se encuentra en Colombia, Venezuela, Panamá, Ecuador y Brasil. En Colombia, su rango de adaptación está entre los 0 y 2150 metros de altura sobre el nivel del mar, en sitios con precipitación entre 400 a más de 4000 mm por año. Ha sido utilizado por los campesinos en la protección de nacimientos y corrientes de agua y en la actualidad es una de las especies con mayor promoción para recuperar cuencas hidrográficas en el Valle del Cauca, Colombia. Se le atribuyen propiedades medicinales y es además utilizado en la construcción de cercas vivas, caneyes, casas, en cultivos multiestrato, como abono verde y alimento para animales (Ríos, 1994). Se ha utilizado en ensayos de alimentación de diferentes especies animales, especialmente cerdos (Sarria *et al.*, 1991), ovinos de pelo (Mejía y Vargas, 1993), cabras (Rosales y Galindo, 1987), conejos (Vargas, 1990), cuyes (Mejía, 1989) y gallinas (Chará, 1992), como fuente de proteína.

A raíz de los trabajos de investigación adelantados por CIPAV, sobre la utilización de *Trichanthera gigantea* como árbol forrajero, se ha incrementado el cultivo, la distribución, y la investigación agronómica y zootécnica en esta especie tanto a nivel nacional como internacional. Los primeros resultados de esta expansión, especialmente ensayos de alimentación con animales, se han caracterizado por ser considerablemente diversos. Las diferencias encontradas en los distintos ensayos podrían ser atribuidas a la variación genotípica de esta especie (diferentes procedencias), a la variación fenotípica (como una respuesta a las diferentes condiciones ambientales en las cuales se ha estado propagando), a una combinación de ambos factores, o a las variaciones intrínsecas de los experimentos y/o análisis realizados (efecto del muestreo, laboratorio, etc.). En la mayoría de los casos se desconoce la procedencia del material vegetativo, por lo que se hace imposible determinar las causas de la variación en cada ensayo en particular. Por otro lado, debido a que la propagación de *Trichanthera gigantea* es vegetativa en la mayoría de las regiones estudiadas, se puede presentar la posibilidad de propagar materiales que sean uniformes genéticamente, es decir, que su propagación se haga a partir de unos pocos individuos parentales. Por esta razón, se planteó la necesidad de establecer el tipo de variación (fenotípica y/o genotípica) encontrada en los ensayos de alimentación y agronómicos. Desde entonces, la Fundación CIPAV inició una colección de germoplasma de *Trichanthera gigantea* con el fin de contar con un banco de material genético de procedencia conocida. Hasta entonces, sólo se había reportado una variedad de esta especie en la literatura, encontrada en Guyana, *Trichanthera gigantea* var. *guianensis* (Record y Hess, 1992). La colección actual de germoplasma tiene 65 ejemplares representativos de varias regiones de Colombia y Venezuela y hasta la fecha se han identificado 20 procedencias genéticamente diferentes, mediante el método de isoenzimas (Ríos, 1994).

En este artículo se dan a conocer resultados iniciales que ilustran la variación en el valor nutricional de *Trichanthera gigantea*. En la primera parte se discuten los resultados obtenidos en diversos ensayos con esta

especie sin conocer sus procedencias, para mostrar la fluctuación en su contenido nutricional. En la segunda parte se muestran los avances en la caracterización del valor nutricional de algunas de las procedencias de la colección de *Trichanthera gigantea* que empiezan a dar un indicio sobre la diversidad genética de esta especie.

La variabilidad genética en especies multipropósito es un recurso que debe ser utilizado adecuadamente. El término procedencia se refiere a un área geográfica y ambiental donde crecieron los árboles progenitores, dentro de la cual se ha desarrollado su constitución genética. La variabilidad entre procedencias en una misma especie, es otra manifestación de la gran diversidad que se presenta en las plantas.

La importancia, enfoques, rasgos importantes y ejemplos de la variabilidad genética de árboles forrajeros, ha sido expuesta anteriormente en esta conferencia por J. Stewart, utilizando los ejemplos de *Leucaena* y *Gliciridia sepium*. La variabilidad, en términos agronómicos y nutricionales de distintas procedencias, ha sido estudiada en varias especies de árboles forrajeros, como lo expuso Stewart.

II. VARIACION DEL VALOR NUTRICIONAL DE *TRICHANTHERA GIGANTEA*

En una revisión reciente de los análisis del valor nutricional de *Trichanthera gigantea* efectuados desde 1989, se encontró una gran variación en la composición química de hojas y tallos (Rosales, 1997a). Los datos mostraron que el contenido de proteína cruda de las hojas varió desde el 15.0 al 22.5%. Los contenidos de agua y materia orgánica variaron del 20 al 27% y de 16 al 20% respectivamente. El contenido de minerales en las hojas, varió de 23 a 43 g/kg de calcio, 2.6 a 9.2 g/kg de fósforo, 24 a 37 g/kg de potasio y desde 7.5 a 12 g/kg de magnesio. En los tallos, la variación fue de 21 a 64 g/kg de Ca, 21 a 42 g/kg de P, 24 a 37 g/kg de K y 5.8 a 7.2 g/kg Mg (Rosales y Galindo, 1987; Rosales *et al.*, 1989; Gómez y Murgueitio, 1991; Jaramillo y Rivera, 1991; Rosales *et al.*, 1992; Solarte, 1994; Nhan, *et al.*, 1996).

En cuanto a metabolitos secundarios no se detectaron alcaloides ni taninos condensados en *Trichanthera gigantea* y los contenidos de saponinas y esteroides fueron muy bajos en pruebas preliminares. En otros ensayos de laboratorio más sensibles, se encontraron contenidos de fenoles totales y esteroides de 450 ppm y 0.062% respectivamente (Rosales *et al.*, 1989). La fluctuación en el contenido de fenoles totales desde 450 hasta 50,288 ppm, sugiere que esto sea una posible causa de la variación en su valor nutricional. Sin embargo, esto está aún por comprobarse.

Se realizaron pruebas de espectrofotometría en clones de *Trichanthera gigantea*, cosechados en dos épocas diferentes con el fin de lograr una caracterización más completa de los compuestos fenólicos. En los perfiles fenólicos se identificó la presencia de cinco picos fenólicos prominentes en los cromatogramas (entre 20 y 30 minutos). La ausencia de un pico en la región de los 10 minutos confirmó que esta planta no tiene taninos condensados detectados en la extracción (no se han determinado taninos ligados a fibra). Estos resultados sugieren que en esta especie, los taninos responsables de la precipitación de proteína son del tipo hidrolizable y son probablemente sólo 5 compuestos. Los cromatogramas también muestran un aumento de la cantidad de compuestos fenólicos relacionada con la edad de la planta.

Fue imposible determinar en esa revisión las causas de la variación en los componentes químicos de las hojas. Esto sugiere la importancia de determinar con mayor precisión, las variaciones nutricionales en esta especie.

La revisión también evidenció que existe poca o ninguna variación en la degradabilidad *in sacco* de esta especie (teniendo en cuenta las limitaciones de esta técnica), sin embargo, se necesitan muchos más datos para corroborar esta hipótesis. Los resultados mostraron que hay una rápida degradación de más del 50% del material en las primeras 12 horas y que durante las primeras 24 horas casi un 70% del material ha sido degradado. La tasa de degradación se hace mucho más lenta entre las 24 y

48 horas. La rápida degradación inicial sugirió que las hojas están compuestas por carbohidratos de rápida fermentación (carbohidratos simples o no estructurales). Esto se evidenció en una caracterización del contenido de nutrientes más reciente (Tabla 1).

Tabla 1. Composición química (g/kg) de *Trichanthera gigantea* (en base seca).

Proteína cruda	178.2
Proteína soluble en agua	35.4
Proteína soluble como % de la proteína cruda(%)	19.8
Carbohidratos solubles en agua	43.2
Almidón	248.2
Azúcares totales	170.1
Azúcares reductores	91.6
Pared celular (FND)	294.1
Ligno-celulosa (FDA)	217.6
Extracto etéreo	31.2
Materia orgánica	804.1
Capacidad de precipitar proteína (cm ² /g)	323.5
Taninos condensados (densidad óptica/g)	0
Fenoles totales (densidad óptica/g)	208.8

Fuente: Rosales, 1996.

La fermentabilidad potencial de *Trichanthera gigantea* también ha sido evaluada y concuerda con los resultados de la alta degradabilidad en el rumen de esta especie. En ambos casos, ocurre una rápida fermentación, que demuestra por la tasa de fermentación de la fracción rápidamente fermentable (2.83 h⁻¹). Al igual que en el caso de la degradabilidad, la mayoría de la fermentación ocurre durante las primeras 12 horas. Esto se relaciona con las altas cantidades de carbohidratos de almacenamiento y no estructurales (fermentables) (Rosales, 1996).

En un estudio más reciente sobre la caracterización preliminar del valor nutricional de nacedero se realizó una serie de análisis químicos de muestras recolectadas en tres sitios diferentes en Colombia (Rosales, 1997b). Se tomó un conjunto de muestras (n=6) en la cordillera occidental en la localidad de El Dovio (Valle del Cauca). Otro conjunto (n=12) se recolectó en Buga en la parte plana del Valle del Río Cauca. Se tomaron muestras de plantas que estaban creciendo a distancias de 1 metro y 0.5 m. El tercer conjunto de muestras (n=6) se recogió en la costa Pacífica, en la localidad del Tatabro, río Anchicayá, de árboles sembrados cerca a la orilla del río y en la parte drenada más alta. Las condiciones ambientales de los sitio de recolección se muestran en la Tabla 2 y los resultados de los análisis en la Tabla 3.

Tabla 2: Características agroecológicas de los sitios de recolección.

	El Dovio	Buga	Tatabro
Altura m.s.n.m	1750	1052	50
Precipitación anual mm	1350	1200	6000
Humedad relativa %	90	70	>100
Temperatura ambiental ¹ C	18	24	28
Suelo	Arcilla-	Aluvial	Sedimentario
.	Ceniza	Neutro.	Aluvial.
.	Acido		Acido.

En la Tabla 3, se observan diferencias en la composición química aunque no es posible determinar con estos datos, si la variación es debida a causas genéticas o ambientales. La materia orgánica varió desde 73 a 83% lo que se considera como contenidos altos. La proteína varió desde el 9.0 hasta casi el 20%. Se encontró la cantidad más alta de proteína en promedio en las plantas que estaban creciendo naturalmente en la localidad de El Dovio; mientras que la cantidad de proteína más baja en promedio se encontró en las plantas que estaban creciendo en un sistema más intensivo, en Buga en plantas cosechadas cada 3 meses y con intervalos entre plantas de un metro. En cuanto a la cantidad de pared celular, los contenidos más altos se obtuvieron en promedio en las plantas que estaban creciendo en el Tatabro. No se evidenció ninguna tendencia en cuanto a los contenidos de ligno-celulosa.

TABLA 3. Composición química de diferentes procedencias de *Trichanthera gigantea* (base seca).

Procedencia	MO	PC	FDN	FDA	FT	CPP	Fermen tación ml
	%	%	%	%	mg	cm ² /g	
El Dovio							
Crecimiento sin cosecha	73.2	19.6	41.2	28.6	0.4	33.6	45.7
Buga 1m/planta cosecha 3 meses	76.1	9.0	38.8	25.1	0.7	69.1	47.9
Buga 0.5m/planta cosecha 3 meses	77.2	12.8	41.7	29.2	0.4	55.2	42.9
Buga 0.5m/planta cosecha 1 mes	75.7	16.7	38.7	21.8	0.7	58.7	36.5
Buga 1m/planta, 3 meses sombra	72.5	17.8	40.5	25.3	0.2	33.2	31.7
Tatabro Crecimiento sin cosecha río	83.3	12.7	49.5	27.4	1.0	81.8	34.0
Tatabro Crecimiento sin cosecha Drenado	77.8	15.3	45.0	26.1	0.5	48.8	34.6
Promedios							
El Dovio	73.2	19.6	41.2	28.6	0.4	33.6	45.7
Buga	75.4	14.1	39.9	25.3	0.5	54.0	39.7
Tatabro	80.5	14.0	47.3	26.8	0.8	65.3	34.3

MO: Materia orgánica. PC: Proteína cruda. FDN: Fibra Detergente Neutro. FDA: Fibra Detergente Ácida. FT: Fenoles totales (equivalentes a ácido gálico). CPP: Capacidad de Precipitar Proteína. * Producción de gas en 48 horas.

En los análisis de fenoles totales se obtuvieron los promedios más altos en plantas recolectadas en la zona húmeda de la costa Pacífica (Tatabro) y los más bajos en las plantas que crecían bajo la sombra en Buga y cosechadas cada 3 meses. Las muestras con mayor capacidad de precipitar proteína procedieron de plantas recolectadas en la costa Pacífica y que crecían en una zona húmeda, lo cual corresponde, como se espera, con la cantidad de fenoles totales citada antes. Las capacidades más bajas de precipitación de

proteína se encontraron en las plantas que crecían bajo la sombra en Buga y eran cosechadas cada 3 meses. En promedio la menor capacidad de precipitar proteína se encontró en aquellas muestras recolectadas en la localidad de El Dovio. Los factores antinutricionales como los fenoles, son una respuesta a las condiciones ambientales; sin embargo es claro que la planta debe tener la disposición genética para producirlos. En este caso, se evidencia que *Trichanthera gigantea* tiene esta disposición. Este trabajo da indicios sobre cómo las condiciones de humedad, sombra y sistema de cultivo pueden influir en la presencia de fenoles con alta capacidad de precipitar proteína y en general en el valor nutricional de *Trichanthera gigantea*.

En la prueba de fermentabilidad *in vitro*, se encontró que las muestras con mayor fermentación correspondían a aquellas provenientes de un cultivo más intensivo (plantas cultivadas en Buga a 1 m de intervalo y cosechadas cada 3 meses). Las de más baja fermentabilidad correspondieron a plantas cultivadas bajo la sombra en Buga.

Estos resultados empiezan a caracterizar de alguna forma la variación fenotípica que puede existir en el valor nutricional de esta especie. Sin embargo, sólo se pueden hacer comparaciones válidas entre procedencias que crezcan juntas en el mismo sitio (para evitar confundir los efectos genotípicos y ambientales). Debido a esto, el efecto de la variación genotípica sólo se puede observar por medio de análisis de las plantas pertenecientes a la colección de germoplasma que estén creciendo bajo las mismas condiciones.

III. AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE *TRICHANTHERA GIGANTEA*.

En 1992, se iniciaron un estudio sobre la etnobotánica de la especie y una colección de germoplasma que en la actualidad cuenta con materiales de las cinco regiones biogeográficas de Colombia (12 departamentos) y tres estados de Venezuela.

El estudio etnobotánico (Ríos, 1994) evidenció que el patrón de distribución de la especie en Colombia, tiene una fuerte influencia antrópica. Con el fin de proteger fuentes de agua, las estacas de *Trichanthera gigantea* fueron trasladadas a nuevas localidades, quizás desde tiempos prehispánicos. En el mismo estudio, no se encontró información sobre propagación sexual. Tampoco se encontraron árboles con semilla sexual en los viajes de recolección de germoplasma realizados hasta 1995. Se considera entonces la posibilidad de tener una base genética muy estrecha de la especie, distribuida en un amplio rango de zonas de vida (11 de acuerdo a la clasificación de Holdridge), ubicadas entre los 0 y 2150 m.s.n.m., con precipitaciones entre 400 y más de 4000 mm/año.

Se efectuaron pruebas de electroforesis de isoenzimas con materiales vegetales de 52 procedencias colectadas en Venezuela y Colombia, para establecer la variación genética en la especie. Se utilizaron tejidos de punta de raíces y hojas tiernas, tomados de plántulas cultivadas en arena bajo condiciones de alta humedad durante un mes. La metodología seguida para la tinción de las isoenzimas se adaptó a partir de los protocolos utilizados por CIAT para yuca en geles de poliacrilamida.

Los patrones electroforéticos observados en las isoenzimas $\alpha\beta$ Esterasa ($\alpha\beta$ EST), Diaforasa (DIA), Glutamato oxaloacetato transaminasa (GOT), y Peroxidasa (PRX), revelaron polimorfismo en un segmento del genoma de esta especie. Los patrones revelados por los geles fueron comparados con base en la presencia o ausencia de bandas, con esta información se generó una matriz de ceros y unos a partir de la cual se calcularon distancias genéticas y se elaboró un dendograma a través de técnicas de análisis multivariado. El dendograma generado por el análisis estadístico reveló una separación entre los materiales de Colombia y Venezuela con las isoenzimas PRX, $\alpha\beta$ EST y GOT. De igual manera, se encontraron ocho grupos con patrones electroforéticos diferentes. Estas pruebas preliminares con isoenzimas permitieron establecer la existencia de variación genética en *Trichanthera gigantea* y son la base para el estudio de procedencias de esta especie.

Se realizó una prueba preliminar de fermentación *in vitro* con 6 materiales pertenecientes a la colección y que crecían bajo las mismas condiciones en la parte plana del Valle del río Cauca. Todas las plantas eran de la misma edad y las muestras fueron cosechadas al mismo tiempo. Se encontraron diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) en la fermentación de las 6 procedencias (Jabonera (Boyacá), Manizales (Caldas), Chiscas (Boyacá), Cerrito (Valle), Ansermanuevo (Valle) y Yátagos (Boyacá)). Las respuestas fueron muy variadas, los perfiles de fermentación más altos correspondieron a la procedencia Chiscas, mientras que los más bajos correspondieron a la procedencia Manizales con valores intermedios para el resto de las procedencias. No se ha hecho ningún otro tipo de análisis en estas muestras. En general, estos resultados evidenciaron que para esta especie existe una variación genética importante en su valor nutricional, expresada en este caso en su fermentabilidad. Sin embargo los materiales de Jabonera, Manizales, Cerrito y Yátagos incluidos en la evaluación, revelaron patrones electroforéticos similares. Estos resultados pueden significar que el segmento del genoma evaluado no se relaciona con la expresión fenotípica medida a través del tiempo de fermentación de las hojas, y que las diferencias en los perfiles de fermentación varían entre individuos. Sería interesante realizar estas pruebas con clones y en caso de obtener la misma respuesta, realizar unas pruebas con ADN que permitan conocer una mayor porción o todo el genoma de la planta, para determinar si existe variabilidad genética entre estos materiales.

El estudio de procedencias de *Trichanthera gigantea* (en curso) comprende la propagación del banco de germoplasma en 5 sitios de Colombia de condiciones agroecológicas contrastantes. En cada sitio, se realizará la evaluación agronómica de las 20 procedencias que presentaron diferencias al ser caracterizadas con marcadores bioquímicos, para identificar los materiales más sobresalientes por sitio. Se evaluará el valor nutricional de las procedencias incluyendo compuestos del metabolismo secundario, su variación anual y se harán pruebas de palatabilidad de los materiales vegetales. Se derivará un "Índice de Potencial Forrajero", el cual agrupará las características agronómicas y nutricionales para clasificar las procedencias más promisorias.

La meta de este proyecto es multiplicar parte de este banco de germoplasma e identificar las procedencias de *Trichanthera gigantea* más promisorias, en términos agronómicos y nutricionales, para condiciones agroecológicas diferentes. Esto dará como resultado una imagen muy completa de la variación genética existente en esta especie.

IV. CONCLUSIONES

Estos resultados son el comienzo de una caracterización más completa de *Trichanthera gigantea*. En ellos se evidencia el potencial de su forraje para la alimentación animal. Se identificaron algunos de los factores que pueden estar influyendo en la variación del valor nutricional de *Trichanthera gigantea*, como son clima, humedad, suelo, sombra y sistema de cultivo. Es probable que existan otros factores igualmente importantes. La variación genotípica expresada en el valor nutricional, aunque todavía falta mucha investigación al respecto, ofrece los primeros indicios de la existencia de algunos ecotipos de mejor valor nutricional que otros. La importancia de establecer la variación fenotípica y genotípica radica en la necesidad de establecer pautas de manejo y estrategias de propagación adecuadas para esta especie.

V. REFERENCIAS

- CHARÁ, J. 1992. Aproximación hacia un sistema de manejo y reproducción de la gallina criolla en semiconfinamiento. Informe Técnico Fundación CIPAV, Cali p 33-40.
- GÓMEZ, M. E. Y MURGUEITIO, E. 1991. Efecto de la altura de corte sobre la producción de biomasa de nacedero (*Trichanthera gigantea*). *Livestock Research for Rural Development* 3 (3):14-23.
- JARAMILLO, P. H Y RIVERA, P. E. 1991. Efecto del tipo de estaca y la densidad de siembra sobre el establecimiento y producción inicial de nacedero *Trichanthera gigantea* (Humboldt & Bonpland). Tesis de Grado. Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia.
- MEJÍA, C. E. 1989. Alimentación de cuyes (*Cavia porcellus*) con nacedero y jugo de caña. Reporte de investigación I semestre de 1989. Convenio inter-institucional para la Producción Agropecuaria en el Valle del Río Cauca (CIPAV). Cali pp. 49-53.
- MEJÍA, C., Y VARGAS, J. E. 1993. Análisis de selectividad de ovejas africanas con cuatro tipos de forrajes. *Livestock Research for Rural Development* (5)3:37-41
- NHAN, N. T. H., VAN HON, N., PRESTON, T. R. AND DOLBERG, F. 1996. Effect of shade on biomass production and composition of the forage tree *Trichanthera gigantea*. *Livestock Research for Rural Development*, Volume 8, Number 2, pp 93.
- RECORD, S.J Y HESS, R. W. 1972. *Timbers of the new world. Use and abuse of America's natural resources.* Arno Press. New York. 642 pp.
- RÍOS, KATTO, CLARA I. 1994. Apuntes etnobotánicos y aportes al conocimiento del Nacedero *Trichanthera gigantea* (Humb. & Bonpl.) Nees. Tesis de Maestría en Desarrollo Sostenible de Sistemas Agrarios. Universidad Javeriana B IMCA B CIPAV. 62 pp.

- ROSALES, M. 1996. In vitro assessment of the nutritive value of mixtures of leaves from tropical fodder trees. Tesis de Doctorado D.Phil., Department of Plant Sciences, Oxford University, Oxford, UK. 214 pp.
- ROSALES, M. 1997A. *Trichanthera gigantea* (Humboldt. Et Bonpland.) Nees, a review. En: Livestock feed resources and integrated farming systems. II FAO electronic conference on tropical feeds. Roma, 9 pp. En CDRom.
- ROSALES, M. 1997B. Avances en la investigación en el valor nutricional del Nacedero (*Trichanthera gigantea*, (Humboldt et Bonpland) Nees.) En: Arboles y arbustos forrajeros utilizados en la alimentación animal como fuente proteica. Editado por CIPAV. Cali, Colombia. pp. 127-144.
- ROSALES, M. Y GALINDO, W. 1987. Aportes al desarrollo de un sistema de alimentación para cabras en el trópico. Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias; Palmira.
- ROSALES, M., PRESTON, T.R., VARGAS, J.E. 1992. Advances in the characterization of non conventional resources with potential use in animal production. British Society of Animal Production. Animal Production in Developing Countries. Occasional Publication No.16. pp. 228-229.
- ROSALES, M. GALINDO, W. F., MURGUEITIO, E., AND LARRAHONDO, J. 1989. Sustancias antinutricionales en las hojas de Guamo, Nacedero y Matarratón. Livestock Research for Rural Development. An International Computerised Journal Vol 1, No.1. 29,748 Bytes.
- SARRIA, P., VILLAVICENCIO, E. Y OREJUELA. 1991. Utilización del follaje de nacedero (*Trichanthera gigantea*) en la alimentación de cerdos de engorde. Livestock Research for Rural Development (Cali) 3 (3):51-58.
- SOLARTE, J. A. 1994. Experiences from two ethnic groups of farmers participating in livestock research in different ecological zones of the Cauca Valley of Colombia. M.Sc. Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala. 80pp.
- VARGAS, J. E. 1990. Utilización de jugo de caña y fuentes proteicas no convencionales en la ceiba de conejos. Documento interno de trabajo CIPAV, Cali 5 pp.
- WANG, T. C. Y FULLER, M. F. 1989. The optimum dietary amino acid pattern for growing pigs. 1. Experiments by amino acid deletion. British Journal of Animal Nutrition. 62:77-89.