



## Artículo

# Evaluación biológica de la harina de hojas de *Macrolobium bicuspidum* en pollos de engorde

Biological evaluation of *Macrolobium bicuspidum* leaf meal in broilers

B. Soledad Rodríguez<sup>1\*</sup>, J. Adames Mora<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Católica Andrés Bello. Caracas, Venezuela.

<sup>2</sup>Departamento de Física, Universidad Simón Bolívar. Caracas, Venezuela.

\*Autora para correspondencia: bsoledad@ucab.edu.ve

Aceptado 15-Agosto-2015

## Resumen

Los costos de alimentación en la producción de pollos de engorde han llevado a la búsqueda de fuentes alternas de proteínas que permitan sustituir en parte al alimento comercial con follajes locales. El “grifo negro” (*Macrolobium bicuspidum*) es una leguminosa que crece en la zona costera de Venezuela y sus hojas son muy apetecidas por los pollos de los campesinos del pueblo de Yare en Los Valles del Tuy, y en el momento del desmonte de los terrenos circundantes al pueblo, se recoge una gran cantidad de follaje. Se determinó la composición proximal de la hoja de *Macrolobium bicuspidum*, los contenidos de calcio, magnesio, sodio y potasio, y realizó un ensayo biológico utilizando pollos de engorde que consumieron una dieta control, una dieta apteica y dietas con inclusión de 5, 10 y 15 % de harina de hojas de *M. bicuspidum* (HHMb). Se evaluó: aumento de peso, alimento consumido, relación de eficiencia de la proteína (PER), la PER ajustada, utilización neta de las proteínas (NPU), eficiencia alimentaria y conversión alimentaria. Se encontró que la HHMb tiene un porcentaje de proteínas en base seca de 18,6 % y alto contenido de calcio, potasio y magnesio, lo que hace a las hojas atractivas desde el punto de vista nutricional. Al comparar los valores del aumento de peso del grupo de pollos alimentados con la dieta control con los alimentados con las dietas en las cuales se sustituyó la proteína control con 5, 10 y 15 % de HHMb, no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre el grupo control y el grupo con sustitución de proteína con un 5 % de HHMb, pero sí hubo

diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con los otros grupos. La dieta con 5 % de HHMb fue la mejor dieta luego de la dieta control, indicando esto que puede incorporarse en pequeñas cantidades en alimentos para aves.

**Palabras claves:** evaluación biológica, fuentes alternas de proteína, hojas, *Macrolobium bicuspidum*, pollos de engorde.

### Abstract

Feed costs in broiler production have led to the search for alternative sources of proteins that enable partial replacement of commercial food with local foliage. *Macrolobium bicuspidum* is a leguminous plant that grows in the coastal zone of Venezuela and its leaves are highly prized by chicken farmers from the town of Yare, in Los Valles del Tuy, and when clearing land surrounding the town, a lot of foliage collected. In this work, the proximate composition of leaf of *Macrolobium bicuspidum*, the contents of calcium, magnesium, sodium and potassium were determined, and a bioassay using broilers that consumed a diet control, aprotic diet and diets with 5, 10 and 15 % of *M. bicuspidum* leaves flour (HHMb) were performed. It was evaluated: weight gain, feed intake, protein efficiency ratio (PER), PER adjusted, net protein utilization (NPU), food efficiency and food conversion. The HHMb was found to have a protein content of 18.6 % (dry basis), it is high in calcium, potassium and magnesium, which makes it attractive from nutritional standpoint. There were not found significant differences ( $p > 0.05$ ) in the weight gain values between the control group and the group with protein replacement of 5 % of HHMb, but there were significant differences ( $p < 0.05$ ) with the other groups. The diet with 5 % of HHMb was the best diet after control diet, indicating this that can be incorporated in small quantities in poultry feed.

**Key words:** alternative sources of protein, biological evaluation, broilers, leaves, *Macrolobium bicuspidum*.

## INTRODUCCIÓN

En la cría de animales, la nutrición depende casi exclusivamente de los alimentos concentrados y el componente de proteína utilizado principalmente en estos alimentos es la harina de soya (*Glycine max*) que tiene un contenido de proteína de aproximadamente 46-48 % y un perfil adecuado de aminoácidos (Broderick *et al.*, 1994). Las proteínas de las hojas pueden ser una alternativa en los países tropicales, donde la vegetación crece todo el año. En un estudio realizado por Maciejewicz-Rys y Hanczakowski (1990) se encontró que las proteínas de hojas de alfalfa tienen un perfil de aminoácidos más adecuado para la

alimentación animal, que la proteína de maíz y más contenido de lisina que la proteína de soya. Urribarrí-C. *et al.* (2004) obtuvieron un concentrado de proteína de hoja de pasto “elefante enano” (*Pennisetum purpureum* Schumach. cv. Mott) con un contenido de proteína del 27,93 %, sin embargo, la proteína era limitante en fenilalanina y metionina para cerdos y aves de corral. Rodríguez *et al.* (2011) sugirieron que las hojas de *Amaranthus dubius*, se pueden utilizar como complemento para las proteínas de arroz, trigo y maíz. Okereke y Akaninwor (2013), estudiaron la calidad de las proteínas de raíces, semillas y las hojas de *Moringa oleifera* cultivada en el Estado de Rivers en Nigeria; los resultados mostraron que

la hoja y semilla de *M. oleifera* son buenas fuentes de aminoácidos tanto para el hombre como para el ganado. Además, el nivel excepcionalmente alto de arginina en las semillas de *M. oleifera* hace que sea una excelente fuente de enriquecimiento de los alimentos de cereal para el destete. Singh *et al.* (2014) describieron el Concentrado Proteico Foliar (CPF) de las hojas de *Shorea robusta*, los elementos minerales y la evaluación química. Ellos encontraron que las hojas frescas y maduras de *Shorea robusta* produjeron una buena cantidad del CPF (5,96 g) por 100 g de hojas, y contenían muy alta cantidad de cenizas (9,24 %), que consistió en calcio, hierro, fósforo, potasio y micronutrientes de azufre; sin embargo, indicaron la necesidad de estudios detallados con respecto a los minerales, las vitaminas, la digestibilidad *in vitro*, pruebas de toxicidad y aminoácidos para estandarizar el uso de las hojas como fuente de CPF. Okafor *et al.* (2014) investigaron el efecto del CPF de *Moringa oleifera* (CPFM), como alimento suplementado, sobre los parámetros nutricionales y el rendimiento del crecimiento de pollos de engorde, el CPFM fue preparado por un método estandarizado y se utilizó para formular una dieta que contenía un nivel de sustitución del 20 % de CPFM por harina de soya; encontraron que la incorporación del CPFM en la alimentación de los pollos de engorde aumentó su crecimiento. Hontiveros y Serrano (2015) evaluaron el valor nutricional de CPF del jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) (WHLPC) como un potencial ingrediente para los alimentos acuícolas en general, y midieron la Digestibilidad Aparente del Ingrediente (ADI) en materia seca en *Oreochromis niloticus* adulto, indicando que el WHLPC suplementado con aminoácidos o con la adición de proteínas podría ser una fuente de proteínas de buena calidad para los alimentos acuícolas.

En Venezuela, hay una gran cantidad de plantas autóctonas que contienen relativamente alta cantidad de proteínas en sus hojas. En observaciones de campo realizadas en el pueblo

de Yare en los Valles del Tuy, se ha observado que las hojas de “grifo negro” (*Macrolobium bicuspidum*) (Fig. 1) son muy apetecidas por los pollos de los agricultores de la región, que a menudo utilizan las hojas de esta planta como alimento (Soledad *et al.*, 1998). La planta crece en la cordillera de la costa entre los 400 y 800 msnm, en las zonas áridas, y al momento del desmonte, se recoge una gran cantidad de forraje, presentando un alto rendimiento de materia seca por hectárea (Soledad-R. *et al.*, 2004). La planta es abundante durante todo el año, lo que podría ser una alternativa a la alimentación animal, sobre todo durante la estación seca, cuando los animales sufren los rigores de la escasez de alimentos, y tienen restricciones cualitativas y cuantitativas de nutrientes que perjudican el crecimiento y la producción de huevos y carne. Soledad *et al.* (1998) obtuvieron un CPF de las hojas de *M. bicuspidum* con un contenido de proteínas de 20 %, un bajo contenido de cenizas y una alta digestibilidad *in vitro*, y en otro estudio, Soledad-R. *et al.* (2004) encontraron que a pesar de que el CPF tenía buenas propiedades funcionales, los pollos no aceptaron el alimento, sobreviniendo la muerte de los mismos por falta de ingestión; debido a esto, se consideraron necesarias nuevas investigaciones *in vivo* para evaluar la utilización de las hojas como fuente no convencional de proteínas en los pollos de engorde.

El objetivo de este estudio fue evaluar biológicamente la harina de hojas de *Macrolobium bicuspidum* (HHMb) al incorporarla en diferentes proporciones en las dietas de pollos de engorde.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materias primas

Las materias primas utilizadas para la elaboración de las diferentes dietas fueron las siguientes: almidón de maíz, producido por Industrias del Maíz, C. A. (INDELMA),



**Figura 1.-** Planta de “grifo negro” (*Macrobium bicuspidum*), hojas y legumbre con semillas.

Venezuela; aceite de maíz, nombre comercial MAZEITE, elaborado por Empresas Polar (Venezuela); mezcla de vitaminas y minerales, nombre comercial PENTAVIVAL, elaborado por Laboratorios VALMOR, C. A. (VALMORCA), Venezuela; caseína, obtenida de leche descremada según procedimiento descrito en la norma CODEX STAN para los productos a base de caseína alimentaria (FAO/OMS, 2001); salvado de trigo, elaborado por Alimentos La Integral, C. A. (Estado Yaracuy, Venezuela); bicarbonato de sodio, elaborado por Soda Química SQ, C. A. (Estado Aragua, Venezuela); alimento comercial ENERPRO, producido por Alimentos Super-S, C. A. (Venezuela); harina de hojas de *M. bicuspidum*. Los reactivos utilizados en este estudio fueron de grado analítico.

#### **Recolección y tratamiento de las hojas *M. bicuspidum***

Las hojas de *M. bicuspidum* se recolectaron en los meses de agosto y

septiembre de 2005, en Yare, Estado Miranda, Venezuela. Se escogieron ramas de plantas sanas con hojas frescas. Posteriormente, se trasladaron al Laboratorio de Análisis de Alimentos, y previo al secado final, se sometieron a un periodo de pre-secado al aire libre bajo sombra durante una semana. Finalmente, fueron colocadas en bandejas de aluminio y se secaron en estufa marca Heraeus, modelo UT 6 P (Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Alemania), a 45 °C por 24 horas. Las hojas se introdujeron en bolsas plásticas, se trituraron de forma manual y luego se pasaron por el mortero para obtener harina de las hojas.

#### **Análisis bromatológico y de minerales de la harina de hojas de *M. bicuspidum***

Los análisis de humedad, proteína, extracto etéreo, fibra cruda y cenizas fueron realizados mediante la normativa de la AOAC (1990). La determinación de minerales (calcio, magnesio, sodio y potasio) se llevó a cabo por el método descrito a continuación:

A 2,0 g de cenizas se le añadió 5 mL de HCl:agua (1:1 v/v) y se calentó por 30 min hasta sequedad. Se le añadió nuevamente 5 mL de la disolución de HCl 1:1 v/v, el contenido del crisol se filtró a través de un papel de filtro Whatman™ N° 42 (Whatman International Limited, UK), se recogió el filtrado en un matraz aforado de 10 mL, se lavó repetidamente el papel de filtro y se aforó a volumen. Los minerales fueron analizados en un espectrómetro PerkinElmer®, modelo 3100 (PerkinElmer, Inc., Waltham, Massachusetts, USA). Los parámetros de operación fueron: a) Llama: aire - acetileno. b) Longitud de onda de absorción: 422,7; 766,5; 589,0 y 285,2 nm para el Ca, K, Na y Mg, respectivamente. c) Ajuste de rendija del monocromador: 0,7; 0,7; 0,2 y 0,7 nm para Ca, K, Na y Mg, respectivamente.

De acuerdo al intervalo lineal en la curva de calibración para cada mineral, a partir de una solución patrón se prepararon 5 soluciones en las siguientes concentraciones: Na 0,2 a 1,0 ppm; K 0,2 a 1,0 ppm; Ca 1,0 a 5,0 ppm; Mg 0,1 a 0,5 ppm. Las lecturas correspondientes se hicieron diluyendo las soluciones de cada electrolito hasta una concentración que permitiera su lectura en cada curva de calibración: Na 1:5 (v/v), K 1:25 (v/v) y luego 1:5 (v/v), Ca 1:25 (v/v), Mg: 1:100 (v/v). La cantidad de cada mineral en las hojas de *M. bicuspidum* se expresó en mg del elemento/100 g de muestra.

### Grupos experimentales

Para el ensayo biológico se utilizaron 70 pollos raza Ross de engorde machos y hembras, de un día de nacidos, provenientes de una incubadora comercial, vacunados contra Gumboro, moquillo y New Castle. Los mismos fueron mantenidos en jaulas (5 pollos por jaula distribuidos al azar, y los pollos se fueron separando, hasta llegar a 1 pollo por jaula) provistas de bombillos de 100 vatios para lograr una temperatura ambiental de  $27,0 \pm 0,6$  °C, y una humedad relativa de  $72 \pm 4$  %; las mismas

contenían un bebedero y un comedero. Los pollos fueron alimentados hasta las 3 semanas con un producto comercial de nombre Pollos Iniciador ENERPRO, para pollos recién nacidos hasta las 3 semanas de edad, y a partir de este momento se dio inicio al experimento dando por concluido el período de acondicionamiento. Los 70 pollos fueron distribuidos al azar en 7 grupos con 10 pollos cada uno, pesados el día de inicio y luego interdiariamente. Los grupos se denominaron de acuerdo a las dietas experimentales. El experimento tuvo una duración de 10 días.

Una vez finalizada la prueba, a los pollos se les cambió la dieta por el alimento comercial para pollos en crecimiento y fueron enviados a un lugar apropiado para la cría de los mismos.

### Composición de las dietas

Con la finalidad de evaluar biológicamente la harina de hojas de *Macrolobium bicuspidum* (HHMb), se utilizaron los 7 grupos de animales, a los cuales se les suministraron diferentes formulaciones alimenticias.

Grupo 1: se empleó como fuente proteica la proteína de las hojas de *M. bicuspidum* sin añadir bicarbonato de sodio. Grupo 2: se empleó como fuente proteica la proteína de las hojas de *M. bicuspidum* y se añadió bicarbonato de sodio al 1 % como aditivo alimentario, para evaluar un posible efecto sobre los pollos. Grupo 3: se empleó como fuente proteica la proteína control y se sustituyó con HHMb en 5 %. Grupo 4: se empleó como fuente proteica la proteína control y se sustituyó con HHMb en 10 %. Grupo 5: se empleó como fuente proteica la proteína control y se sustituyó con HHMb en 15 %. Grupo control: se preparó el alimento utilizando a la caseína como fuente de proteína. Grupo apteico: se preparó la formulación del alimento pero sin añadir proteína.

La composición de las diferentes dietas elaboradas se presenta en el Cuadro 1. Los alimentos preparados utilizando HHMb como fuente proteica fueron similares al alimento control en cuanto al contenido de humedad, proteína, fibra cruda, cenizas y carbohidratos. La mezcla de sales y vitaminas (PENTAVIVAL) fue una formulación comercial especialmente diseñada para aves, la cual se agregó al agua de bebida de los pollos de engorde en una proporción de 10 mL por cada 2 litros del agua para bebida, durante el tiempo que duró el experimento.

### Preparación del alimento

A baja velocidad, se mezcló almidón de maíz con agua tibia con una batidora manual hasta la gelificación del mismo. Posteriormente,

se fueron incorporando los diferentes ingredientes: el aceite de maíz, la caseína, el salvado de trigo, el bicarbonato de sodio, la harina de las hojas de *M. bicuspidum*, dependiendo de la formulación, hasta obtener una mezcla homogénea. Las formulaciones se desmenuzaron, se colocaron en bandejas de aluminio y se secaron en estufa marca Heraeus, modelo UT 6 P (Heraeus Instruments GmbH, Alemania), a 45 °C por 24 horas. Después se dejaron enfriar hasta temperatura ambiental, se empacaron en envases plásticos, se sellaron y se almacenaron a temperatura ambiental hasta su uso.

A las 7 formulaciones alimenticias se les efectuó análisis de humedad y proteína siguiendo las metodologías de la AOAC (1990).

**Cuadro 1.-** Composición de las dietas experimentales.

Ingrediente	HHMb sin NaHCO <sub>3</sub>	HHMb más 1 % NaHCO <sub>3</sub>	Sustitución proteína en 5 % con HHMb	Sustitución proteína en 10 % con HHMb	Sustitución proteína en 15 % con HHMb	Control	Aproteica
Almidón de maíz	50	49	70	70	70	70	84,4
Aceite de maíz	6,8	6,8	8	8	8	8	8
Caseína	0	0	15,2	14,4	13,6	16	0
Salvado de trigo	0	0	0	0	0	2,6	2,6
Bicarbonato de sodio	0	1	0	0	0	0	0
Harina de hojas de <i>M. bicuspidum</i>	40	40	0,8	1,6	2,4	0	0
Agua	250	500	100	100	100	500	500

Las cantidades están expresadas en gramos. HHMb: harina de hojas de *Macrolobium bicuspidum*.

### Evaluación biológica de las hojas de *M. bicuspidum*

Para la evaluación biológica durante el experimento se determinó el aumento de peso (peso final - peso inicial) (Paredes-López,

1999). Se pesó diariamente el alimento ofrecido y el rechazado para calcular la cantidad de alimento consumido (alimento ofrecido - alimento rechazado). Las excretas de los pollos fueron recogidas en los últimos 5 días del experimento; a estas excreciones se les

determinó el contenido de nitrógeno por el método de Kjeldahl. Se determinó la tasa de mortalidad.

A partir del consumo, crecimiento y de las pérdidas de nitrógeno en las excretas de los pollos que consumieron las diferentes dietas, se determinó la Relación de Eficiencia de la Proteína (PER, 'Protein Efficiency Ratio') (Ec.

1) (Osborne *et al.*, 1919), la PER ajustada (Ec. 2) (Hegsted, 1971), la Utilización Neta de las Proteínas (NPU, 'Net Protein Utilization') (Ec. 3) (Bender y Miller, 1953), la Eficiencia Alimentaria (EA) (Ec. 4) (Yousefian *et al.*, 2012) y la Conversión Alimentaria (CA) (Ec. 5) (Villanueva y San Martín, 1997).

$$\text{Ecuación (1)} \quad \text{PER} = \frac{\text{Peso ganado por el grupo bajo estudio (g)}}{\text{Peso de proteína ingerida (g)}}$$

$$\text{Ecuación (2)} \quad \text{PER ajustada} = \left( \frac{\text{PER de la proteína estudiada}}{\text{PER caseína grupo control}} \right) \times 2,5$$

$$\text{Ecuación (3)} \quad \text{NPU} = \frac{\text{N ingerido grupo estudiado} - (\text{N excretado grupo estudiado} - \text{N excretado grupo apteico})}{\text{N ingerido grupo estudiado}} \times 100$$

$$\text{Ecuación (4)} \quad \% \text{ EA} = \frac{\text{Peso ganado por el animal (g)}}{\text{Consumo de alimento (g)}} \times 100$$

$$\text{Ecuación (5)} \quad \text{CA} = \frac{\text{Consumo de alimento (g)}}{\text{Peso ganado por el animal ((g))}}$$

### Análisis estadístico

Se aplicó análisis de varianza (ANOVA) de un factor utilizando un nivel de significancia de 0,05 para las variables aumento de peso, alimento consumido, PER, EA y CA. Para los cálculos del ANOVA de un factor se utilizó la hoja de cálculo de Microsoft® Office Excel, versión 2010 (Microsoft® Corporation, Redmond, WA, USA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Composición química y contenido mineral

El análisis proximal de la harina de hojas de *M. bicuspidum* se presenta en el Cuadro 2.

El contenido de proteínas de 18,6 % en la harina de hojas (base seca) es un valor para considerar la utilización de esta hoja como

fuelle de proteínas. Al comparar con los contenidos de proteína en harinas de hojas de otras especies utilizadas o que han sido sugeridas para la alimentación de aves, el valor determinado fue cercano al de harinas de follaje de *Musa paradisiaca* 17,93 % (Marín *et al.*, 2003), hojas de *Musa paradisiaca* L., subsp. *normalis* O. Kze. 18,0 % (Rosas-Romero y Díaz, 1983), *Moringa oleifera* 19,76 % (Abou-Elezz *et al.*, 2011), *Cnidocolus chayamans* 20,0 % (Aguilar-Ramírez *et al.*, 2000); menor al de harinas de hojas de *Moringa stenopetala* 30,6 % (Melesse *et al.*, 2011), follaje de *Clitoria ternatea* 23,31 %, (Marín *et al.*, 2003), como también a los valores documentados para la especie *Leucaena leucocephala* con 23,61 % (Abou-Elezz *et al.*, 2011) y 22,5 % (Aguilar-Ramírez *et al.*, 2000). Respecto a harinas de follaje henificados que han sido estudiados en la alimentación de pollos de engorde, el valor de proteína fue mayor al de *Brachiaria humidicola*



**Cuadro 2.-** Composición porcentual de la harina de hojas de *Maculobium bicuspidum*.

Componente (%)	Base húmeda	Base seca
Humedad	71,3 ± 0,8	0
Proteína	5,4 ± 0,8	18,6 ± 0,8
Grasa cruda	0,9 ± 0,1	3,1 ± 0,1
Fibra cruda	9,8 ± 0,5	34,3 ± 0,5
Cenizas	2,7 ± 0,2	9,3 ± 0,2
Carbohidratos	9,9 ± 1,3	34,6 ± 1,3

6,3 % y menor al de *Clitoria ternatea* 22,8 % (Monforte *et al.*, 2002).

Un alto contenido de fibra podría limitar la utilización en animales monogástricos (Marín *et al.*, 2003). En las hojas de *M. bicuspidum* el contenido de fibra cruda fue 9,8 %; y este valor fue inferior al encontrado para el follaje de *Manihot esculenta* Crantz 11,40 % (Iheukwumere *et al.*, 2008), follajes de *Clitoria ternatea* 21,23 % y *Brachiaria humidicola* 28,43 % (Monforte *et al.*, 2002), hojas de bora (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) tierna y madura 23,03 % y 24,75 %, respectivamente (Rodríguez-R., 1997), follajes de *Musa paradisiaca* 31,63 % y *Clitoria ternatea* 31,01 % (Marín *et al.*, 2003) y hojas de *Musa paradisiaca* 30,0 % (Rosas-Romero y Díaz, 1983). Esto puede ser un buen indicio para su uso en la sustitución parcial del alimento de los pollos de engorde.

Los contenidos de calcio, magnesio, sodio y potasio en las hojas de *M. bicuspidum* se presentan en el Cuadro 3, donde se comparan con los requisitos establecidos por el National Research Council (NRC) de Estados Unidos que corresponden a pollos de engorde de 0 a 3 semanas (NRC, 1994).

Si se comparan estos valores con los requerimientos para pollos de engorde, el calcio fue aproximadamente la mitad del requerimiento, el magnesio aproximadamente 3

veces el valor requerido, y en cuanto al potasio, este se encontró en una cantidad ligeramente mayor de la necesidad en las aves. El valor de sodio fue muy bajo y no cumplió con el requisito. Anteriormente el requerimiento era 150 mg/100 g y Vieira *et al.* (2003) consideraron debería ser mayor por favorecer la ganancia de peso corporal y la conversión alimentaria, como también observaron Dai *et al.* (2009). Jankowski *et al.* (2011) apreciaron que la adición de sodio a dietas de inicio aumenta el peso corporal, pero solo en la cantidad de 1,1 g Na/kg alimento, mientras que en dietas de crecimiento 1,16 g Na/kg alimento; y notaron, que incrementos hasta 2,61 g Na/kg alimento no aumenta el peso. Estos autores señalaron, que consecuencias negativas de un aumento de la ingesta de sodio incluyen altos niveles de consumo de agua y mayor contenido de humedad de la cama o lecho, lo que incrementa el riesgo de muchas enfermedades (incluyendo pododermatitis) y otros problemas de salud; y por eso los requerimientos de sodio de la Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE) de Alemania son menores a los del NRC. Cabe destacar, que diferentes fuentes de sodio y sus concentraciones, pueden ejercer distintos efectos en el metabolismo e incidir o no en el peso corporal de los pollos (Zduńczyk *et al.*, 2012).

### **Análisis de humedad y proteína de las dietas experimentales**

Con el propósito de calcular la cantidad de proteína ingerida por los animales bajo estudio, se efectuó el análisis de humedad y proteína en las diferentes dietas experimentales. Los resultados de humedad y de proteína para las dietas utilizadas en la evaluación se muestran en el Cuadro 4. Se observan valores similares de porcentaje de proteína en base seca en las dietas en las cuales se realizó la sustitución de la proteína con HHMb en 10 y 15 % con respecto a la dieta control; hubo un porcentaje ligeramente mayor en la dieta con



**Cuadro 3.-** Contenido mineral en harina de hojas de *Macrolobium bicuspidum*.

Componente	Contenido en la harina (mg/100 g muestra)	Requerimientos en los pollos (mg/100 g)*
Calcio	520,0 ± 3,0	1000
Magnesio	188,0 ± 3,0	60
Sodio	11,8 ± 0,2	200
Potasio	462,0 ± 8,0	300

\* NRC (1994).

**Cuadro 4.-** Resultados de los análisis de humedad y proteína en las dietas.

Dieta experimental	Humedad (%)	Proteína (%) base húmeda	Proteína (%) base seca
HHMb sin NaHCO <sub>3</sub>	8,3 ± 0,2	6,7 ± 0,7	7,31 ± 0,7
HHMb más 1 % NaHCO <sub>3</sub>	9,6 ± 0,3	7,5 ± 0,9	8,30 ± 0,9
Sustitución proteína en 5 % con HHMb	10,2 ± 0,3	13,4 ± 0,9	14,90 ± 0,9
Sustitución proteína en 10 % con HHMb	5,9 ± 0,9	10,7 ± 0,6	11,40 ± 0,6
Sustitución proteína en 15 % con HHMb	10,2 ± 0,2	10,7 ± 0,9	11,90 ± 0,9
Control	10,1 ± 0,2	10,2 ± 0,6	11,35 ± 0,6
Aproteica	4,5 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,84 ± 0,1

HHMb: harina de hojas de *Macrolobium bicuspidum*.

sustitución de un 5 % con HHMb y los valores menores correspondieron a la HHMb sin y con 1 % de NaHCO<sub>3</sub>.

### Evaluación biológica

#### Aumento de peso y alimento consumido

En el Cuadro 5 se muestran los resultados relacionados con el aumento de peso y la cantidad de alimento consumido, entre otros, de los diferentes grupos estudiados.

Con relación al aumento de peso de los animales, los del grupo control lograron mayor

aumento de peso. Se observó que los pollos alimentados con la dieta aproteica experimentaron pérdida de peso, así como las aves alimentadas con HHMb sin NaHCO<sub>3</sub> y HHMb más 1 % NaHCO<sub>3</sub>. La pérdida de peso experimentada por las aves alimentadas con HHMb sin NaHCO<sub>3</sub> y HHMb más 1 % NaHCO<sub>3</sub> fue de -32,97 y -29,05 gramos, respectivamente. Esto pudiera indicar que hubo un efecto sobre la pérdida de peso proporcionado por la adición del bicarbonato de sodio. Sin embargo, al analizar estadísticamente estos valores por medio del ANOVA de un factor, se encontró que el valor de *F* calculado = 0,30 fue menor al valor crítico de *F* = 4,45 a

**Cuadro 5.-** Valores promedios de variables medidas de los grupos de experimentación.

Variables	HHMb sin NaHCO <sub>3</sub>	HHMb más 1 % NaHCO <sub>3</sub>	Sustitución proteína en 5 % con HHMb	Sustitución proteína en 10 % con HHMb	Sustitución proteína en 15 % con HHMb	Control	Aproteico
Peso inicial	136,58±22,75	118,68±26,13	117,77±22,34	139,16±39,39	106,78±32,36	124,09±26,92	107,56±24,68
Peso final	103,60±17,10	89,63±14,17	129,12±31,81	144,01±49,16	109,29±36,37	148,08±37,87	81,26±19,35
Peso ganado o perdido	<b>-32,97±9,00</b>	<b>-29,05±9,40</b>	<b>11,35±13,74</b>	<b>4,85±23,67</b>	<b>2,51±16,23</b>	<b>23,99±14,69</b>	<b>-26,31±9,92</b>
Consumo de alimento ingerido	<b>176,36±82,33</b>	<b>114,09±44,01</b>	<b>160,61±44,01</b>	<b>157,53±44,00</b>	<b>157,96±32,61</b>	<b>186,75±89,14</b>	<b>114,12±46,80</b>
Consumo total de alimento	1587,20±0,06	1140,89±0,06	1284,88±0,06	1417,76±0,06	1421,61±0,06	1867,49±0,06	1027,09±0,06
Consumo total de proteínas	105,87±12,70	86,02±8,98	171,79±11,53	136,96±7,68	151,97±12,78	191,23±11,2	7,7±0,9
Consumo de alimento total durante NPU	398,58±0,04	373,57±0,04	42,52±0,04	41,25±0,04	34,23±0,04	380,99±0,04	297,01±0,04
Consumo de nitrógeno durante NPU	26,59±2,53	28,17±2,68	5,69±0,68	3,99±0,48	3,66±0,16	39,01±0,95	2,23±0,80
Peso de excretas	169,90±0,02	160,28±0,02	52,07±0,02	68,20±0,02	55,24±0,02	69,33±0,02	37,17±0,02
Nitrógeno excretado	3,64±0,34	3,33±0,32	3,91±0,47	4,71±0,14	2,46±0,11	2,27±0,06	0,51±0,18

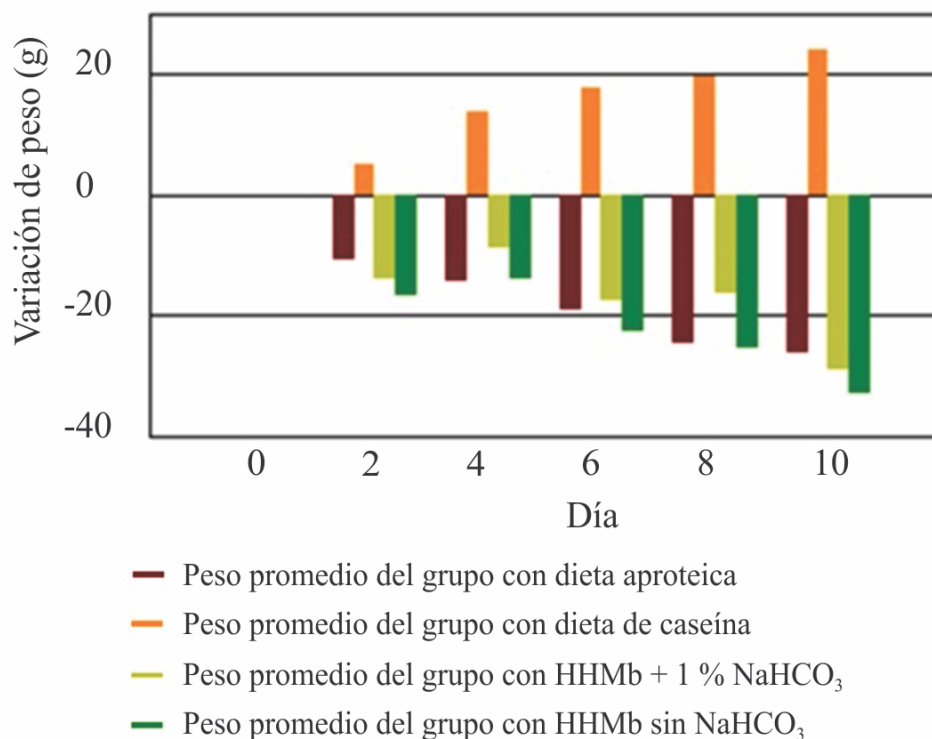
Los valores son promedios y están expresados en gramos. HHMb: harina de hojas de *Macrobium bicuspidum*.

un nivel de confianza de 95 %, por lo que no se encontró una diferencia de peso estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ). El bicarbonato de sodio no produjo un efecto, aunque ha sido documentado que pollos alimentados con dietas que contienen NaHCO<sub>3</sub> presentan mejor desarrollo, por ganancia de peso, que alimentados con dietas sin NaHCO<sub>3</sub>, por razones asociadas al balance electrolítico y condiciones de stress (Puron *et al.*, 1997; Naseem *et al.*, 2005). La variación promedio de peso de los grupos control, apteico, HHMb sin NaHCO<sub>3</sub> y HHMb más 1 % NaHCO<sub>3</sub> en función del tiempo del experimento se presenta en la Fig. 2.

En lo que respecta a los pollos alimentados donde se sustituyó parcialmente la proteína control con HHMb, se observó que el mayor aumento de peso lo experimentó el grupo en el cual se sustituyó la proteína control en un 5 %, seguido por el grupo en el cual la

sustitución fue de un 10 %. El grupo con sustitución de un 15 % fue el que experimentó el menor aumento de peso (Cuadro 5). Sin embargo, al someter estos valores de aumento de peso al ANOVA, se encontró que el valor de  $F$  calculado = 1,62 fue menor al valor crítico  $F = 3,42$  a un nivel de confianza de 95 %, por lo que no hubo una variación de pesos estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Cabe destacar los altos valores de desviación estándar. La variación promedio de peso de los grupos alimentados con las dietas en las cuales se sustituyó la caseína (proteína control) con 5, 10 y 15 % de HHMb en función del tiempo del experimento se presenta en la Fig. 3.

El aumento de peso fue de 11,35; 4,85 y 2,51 g para los alimentos con sustitución de 5, 10 y 15 % de HHMb respectivamente, disminuyendo la ganancia de peso de los pollos con el incremento de los niveles de HHMb en la dieta (Cuadro 5). Al comparar el aumento de



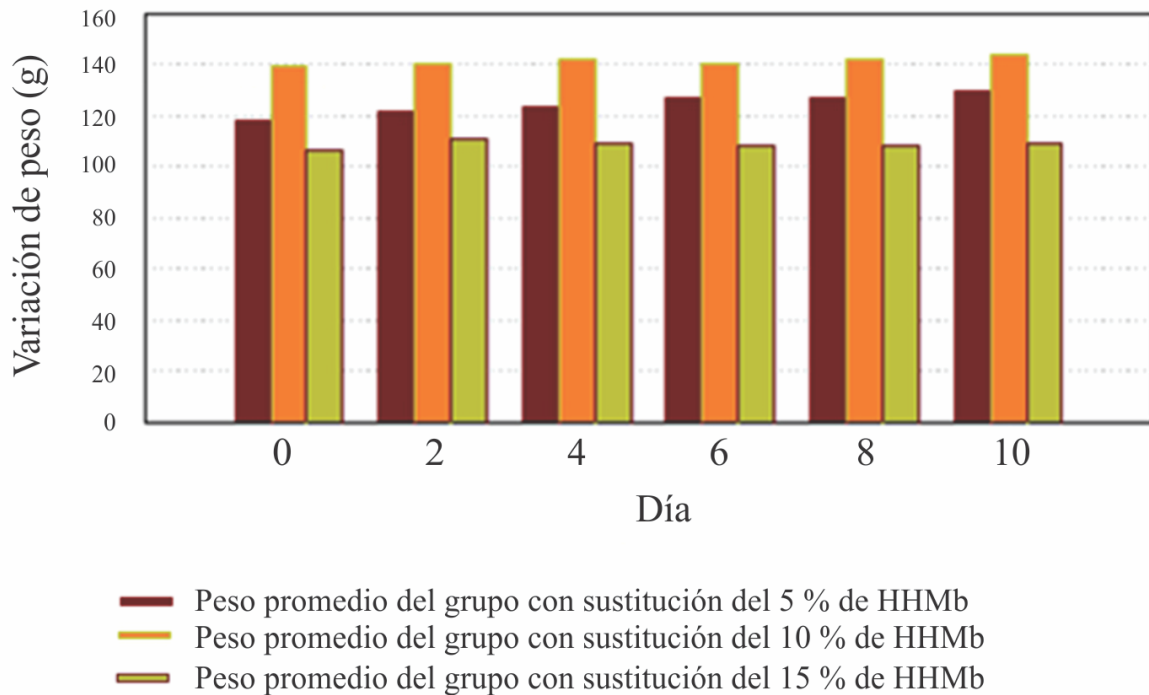
HHMb: harina de hojas de *Macrolobium bicuspidum*.

**Figura 2.-** Variación de peso en los grupos apteico, control, HHMb más 1 % NaHCO<sub>3</sub> y HHMb sin NaHCO<sub>3</sub> en función de los días del experimento.

peso del grupo de pollos alimentados con la dieta control con la dieta en la cual se sustituyó la proteína control con 5 % de HHMb, 10 % de HHMb y 15 % de HHMb, no se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo con sustitución de proteína con un 5 % de HHMb, pero si hubo diferencias significativas con los otros grupos, indicando que la mejor dieta fue la que tuvo una sustitución de un 5 % con HHMb. Esto también fue observado por Gakuya *et al.* (2014), donde la dieta control produjo la mayor ganancia de peso comparada con las dietas estudiadas de 7,5; 15 y 30 % de incorporación de hojas de *Moringa oleifera* en alimentos para pollos. López-M. *et al.* (2012) también encontraron que a un nivel de inclusión del 5 %, la harina de

*Alocasia macrorrhiza* es una alternativa de alimentación para pollos de engorde después de evaluar su inclusión en niveles de 0, 5, 10 y 15 %. Tesfaye *et al.* (2013) apreciaron que al incrementar el nivel de inclusión por encima de un 5 % con harina de *Moringa oleifera* en alimentos para pollos, se tiene un efecto negativo sobre el comportamiento biológico y Gakuya *et al.* (2014) encontraron que valores de sustitución por encima de un 7,5 % afectan la ganancia de peso.

Más específicamente, cuando se compararon por medio del ANOVA, los resultados obtenidos del aumento de peso de los pollos alimentados con la dieta a base de caseína (grupo control) con los alimentados con las 3 dietas en las cuales se sustituyó



HHMb: harina de hojas de *Macrolobium bicuspidum*.

**Figura 3.-** Variación de peso en los grupos alimentados con dietas donde se sustituyó la caseína con 5, 10 y 15 % de HHMb en función de los días del experimento.

parcialmente la caseína con HHMb (5, 10 y 15 %), se encontró que el valor de  $F$  calculado = 5,08 fue mayor al valor crítico de  $F = 2,90$  a un nivel de confianza de 95 %, por lo que hubo diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0,05$ ). Al comparar el aumento de peso del grupo de pollos alimentados con la dieta a base de caseína (grupo control) con la dieta en la cual se sustituyó la caseína (proteína control) con 5 % de HHMb, no hubo diferencia estadística significativa ( $p > 0,05$ ), el valor de  $F$  calculado = 2,96 fue menor al valor crítico de  $F = 4,49$ . Cuando se efectuó esta misma comparación con la dieta en la cual la caseína se sustituyó con 10 % de HHMb, el valor de  $F$  calculado = 6,64 fue mayor al valor crítico  $F = 4,45$  a un nivel de confianza de 95 %, por lo que hubo diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ ) entre ambos grupos de

experimentación. De igual forma, al comparar el aumento de peso del grupo de pollos alimentados con la dieta a base de caseína (grupo control) con la dieta en la cual la caseína se sustituyó con un 15 % de HHMb, el valor de  $F$  calculado = 10,27 fue mayor al valor crítico de  $F = 4,45$ , por lo que hubo diferencias estadísticas significativas entre estos grupos ( $p < 0,05$ ). La dieta con 5 % de HHMb fue la mejor luego de la dieta a base de caseína (control).

En relación con el alimento consumido, el consumo fue desde 114,09 hasta los 186,75 g, correspondiendo el valor menor a los pollos a los cuales se les suministró HHMb más 1 %  $\text{NaHCO}_3$  y el valor mayor a los alimentados con la ración a base de caseína (grupo control). Cabe destacar que los animales pertenecientes al grupo apteico también consumieron poco

alimento (114,12 g) y este grupo mostró falta de apetito a partir del cuarto día de experimentación (Cuadro 5).

Entre los grupos que consumieron HHMb sin %  $\text{NaHCO}_3$  (consumo 176,36 g) y HHMb más 1 %  $\text{NaHCO}_3$  (consumo 114,09 g) el valor de  $F$  calculado = 4,36 fue menor al valor crítico de  $F = 4,45$  a un nivel de confianza de 95 %, por lo que no hubo diferencia estadística significativa ( $p > 0,05$ ).

Con respecto a los grupos a los cuales se les suministraron raciones preparadas con sustitución parcial de la proteína control por HHMb, los valores encontrados para el consumo de alimento fueron 160,61; 157,53 y 157,96 g para los porcentajes de sustitución de 5, 10 y 15 %, respectivamente. El valor de  $F$  calculado = 0,014 fue menor al valor crítico de  $F = 3,42$  un nivel de confianza de 95 %, por lo que no hubo diferencia estadística significativa ( $p > 0,05$ ). Estos alimentos preparados donde se sustituyó la proteína de la dieta control con HHMb presentaron compactación similar a la

del grupo control.

### Análisis de nitrógeno en las excretas de los pollos

Con la finalidad de calcular la cantidad de nitrógeno excretado por los pollos bajo estudio, para el posterior análisis de la Utilización Neta de las Proteína (NPU), se analizaron las excretas tomadas en los últimos 5 días del experimento. Los resultados de nitrógeno y proteína en las excretas de los pollos de los diferentes grupos estudiados se presentan en el Cuadro 6. Se observa que el grupo apteico presentó el menor porcentaje de proteína excretada, el grupo control un 20,5 % de proteína excretada y los alimentos con sustitución de la proteína del 5 y 10 % con HHMb presentaron el mayor porcentaje de nitrógeno excretado, llegando a duplicar el valor del grupo control; indicando esto que la proteína suministrada tuvo poca retención en el organismo de las aves estudiadas.

**Cuadro 6.-** Valores de nitrógeno y proteína en las excretas de los pollos alimentados con las dietas estudiadas.

Grupo experimental	% nitrógeno	% de proteína
HHMb sin $\text{NaHCO}_3$	2,1 ± 0,2	13,4 ± 0,9
HHMb más 1 % $\text{NaHCO}_3$	2,1 ± 0,2	12,9 ± 0,9
Sustitución proteína en 5 % con HHMb	7,5 ± 0,9	46,9 ± 0,9
Sustitución proteína en 10 % con HHMb	6,9 ± 0,2	43,1 ± 0,1
Sustitución proteína en 15 % con HHMb	4,5 ± 0,2	27,9 ± 0,1
Control	3,28 ± 0,08	20,5 ± 0,5
Apteico	1,4 ± 0,5	8,6 ± 0,9

HHMb: harina de hojas de *Macrolobium bicuspidum*.

### Tasa de mortalidad

La mortalidad en el grupo apteico, y en los grupos con sustitución del 10 % y 15 % con HHMb fue de 1 pollo y en el alimento con

sustitución de 5 % con HHMb fue de 2 pollos. En el grupo control y en el cual se utilizó HHMb más 1 %  $\text{NaHCO}_3$  no hubo muerte de los animales de experimentación.

### PER, PER ajustado, NPU, EA, CA

Los valores obtenidos para la Relación de Eficiencia de la Proteína (PER), PER ajustada, la Utilización Neta de las Proteínas (NPU), la Eficiencia Alimentaria y la Conversión Alimentaria (CA) en los diferentes alimentos estudiados son tabulados en el Cuadro 7.

Los valores de PER para los grupos de pollos a los cuales se les ofreció como alimento HHMb sin  $\text{NaHCO}_3$  y HHMb más 1 %  $\text{NaHCO}_3$  fueron negativos; esto indicó que la proteína de las hojas de *M. bicuspidum* no puede ser utilizada como única fuente de aminoácidos pues no conlleva a un adecuado desarrollo del animal y su consecuente crecimiento. Al analizarse las varianzas de los 2 valores obtenidos para la PER, se encontró que el valor de  $F$  calculado = 0,06 fue menor al valor crítico  $F = 4,45$  a un nivel de confianza de 95 %, por lo que no hubo diferencia estadística significativa ( $p > 0,05$ ).

En lo que respecta a los valores de PER y PER ajustada, para los grupos de animales a los cuales se les suministró alimento preparado con sustitución parcial de la proteína control con la HHMb, se encontró que disminuyeron en la medida en que se aumentó el porcentaje de incorporación. Entre estos 3 grupos no hubo diferencias estadísticas significativas ( $p > 0,05$ ). El valor de  $F$  calculado = 0,67 fue menor al valor crítico de  $F = 3,42$ . Los valores obtenidos para la PER fueron de 0,42; 0,14 y 0,12 para los grupos alimentados con las dietas con un 5, 10 y 15 % de sustitución con HHMb, respectivamente; estos valores fueron menores a los calculados por Melesse *et al.* (2011) para niveles de inclusión de 2, 4 y 6 % de hojas de *Moringa stenopetala* en la alimentación de pollos (0,61; 0,65 y 0,65 respectivamente); por Fasuyi y Akindahunsi (2009) para dietas con sustitución de 5, 15 y 25 % con harinas de hojas de *Amarantus cruentus* (1,53; 1,47 y 1,10 respectivamente); y por Fasuyi *et al.* (2008) para niveles de inclusión de 0, 5, 10, 15, 20 y

25 %, con harina de hojas de *Amaranthus cruentus* (1,89; 1,75; 1,66; 1,84; 1,61 y 1,44). Los valores de PER ajustada para las distintas dietas estudiadas, indicaron que las proteínas del *M. bicuspidum* son de una calidad pobre.

El índice PER es un método que mide el aumento de peso con relación a la proteína cruda y no discrimina si se debe a un aumento de proteína o grasa corporal, mientras que a través del NPU se mide la proteína retenida con relación a la proteína consumida. Al evaluar en lo que respecta al NPU, el valor obtenido para la dieta control fue 95 %; cercano al determinado por Silva-S. *et al.* (2003) para caseína utilizada como insumo en la formulación de dietas (96,46).

Los valores encontrados tanto para el alimento a partir de HHMb sin  $\text{NaHCO}_3$  y HHMb más 1 %  $\text{NaHCO}_3$  fueron altos, indicando esto que la proteína ingerida fue utilizada en el organismo de los animales de experimentación en un porcentaje de 90 y 88 %, respectivamente.

Al evaluar los valores de NPU encontrados para los grupos a los que se le administró alimentos con sustitución parcial de la proteína utilizada como control, se encontró que los valores obtenidos para los grupos de 5 y 15 % fueron 40 y 47 % respectivamente, lo que indicó que la incorporación de la HHMb en el alimento disminuyó la utilización neta de la proteína si se compara con el grupo control. El valor encontrado para el alimento con un 10 % de sustitución, fue muy bajo, y parece indicar un error experimental. Los valores obtenidos son comparables a los encontrados para la harina de carne (35,52) por Silva-S. *et al.* (2003), pero inferiores a los obtenidos para dietas con sustitución del 15 % de harinas de *Clitoria ternatea* 79,12 y *Brachiaria humidicola* 79,85 (Monforte *et al.*, 2002).

La EA del grupo control fue 15,72 %; por otra parte, tanto para el grupo apteico como para los grupos en los cuales se usó HHMb sin y con bicarbonato de sodio se encontraron valores negativos (Cuadro 7), esto

**Cuadro 7.-** Valores obtenidos de PER, PER ajustado, NPU, EA, CA en los distintos grupos de experimentación.

Grupo experimental	PER	PER ajustada	NPU (%)	EA (%)	CA
HHMb sin NaHCO <sub>3</sub>	-3,57 <sup>NS</sup>	-5,79	88	-23,78 <sup>NS</sup>	-6,75 <sup>NS</sup>
HHMb más 1 % NaHCO <sub>3</sub>	-3,87 <sup>NS</sup>	-6,28	90	-29,22 <sup>NS</sup>	-4,92 <sup>NS</sup>
Sustitución proteína en 5 % con HHMb	0,42 <sup>NS</sup>	1,05	40	5,56 <sup>NS</sup>	8,23 <sup>NS</sup>
Sustitución proteína en 10 % con HHMb	0,14 <sup>NS</sup>	0,68	5	1,45 <sup>NS</sup>	-3,59 <sup>NS</sup>
Sustitución proteína en 15 % con HHMb	0,12 <sup>NS</sup>	0,20	47	1,34 <sup>NS</sup>	-4,08 <sup>NS</sup>
Control	1,54	2,50	95	15,72	17,21
Aproteico	-34,07	-55,30	-	-25,56	-4,77

NS: estadísticamente no significativo. PER: relación de eficiencia de la proteína. NPU: utilización neta de las proteínas. EA: eficiencia alimentaria. CA: conversión alimentaria. HHMb: harina de hojas de *Macrolobium bicuspidum*.

era lo esperado para el grupo apteico pero no para los grupos en los cuales se utilizó la HHMb; no obstante, los resultados son consistentes con la pérdida de peso encontrada en estos grupos de experimentación (Cuadro 5). Al aplicarle el análisis estadístico a los valores obtenidos para HHMb sin NaHCO<sub>3</sub> y HHMb más 1 % NaHCO<sub>3</sub>, el valor de  $F$  calculado fue = 0,36 y el valor crítico de  $F = 4,45$ ; como el valor calculado fue menor al valor crítico, no hubo diferencia estadística significativa ( $p > 0,05$ ) entre estos grupos de experimentación, no encontrándose un efecto en la dieta con 1 % de NaHCO<sub>3</sub>.

Para los grupos a los cuales se les sustituyó parcialmente la proteína de la dieta control con la HHMb se encontró que, a medida que aumentaba el porcentaje de sustitución de la proteína de las hojas en la dieta, disminuía el valor de la EA. No obstante, el análisis de varianza reveló que no hubo diferencias significativas entre estos grupos ( $p > 0,05$ ). El valor de  $F$  calculado = 1,11 fue menor al valor crítico de  $F = 3,42$ . Un comportamiento similar en la relación peso ganado/consumo de

alimento fue obtenido por Egbewande *et al.* (2011) al utilizar harina de hojas de *Tapinanthus bangwensis* en niveles de inclusión de 0, 5, 10 y 15 % en dietas de pollos de engorde.

Con relación a la CA, el valor obtenido para el grupo control fue de 17,21 mientras que los grupos alimentados con raciones preparadas con HHMb como única fuente de proteínas arrojaron valores negativos (Cuadro 7). El análisis de varianza no encontró diferencias estadísticas significativas ( $p > 0,05$ ). El valor de  $F$  calculado = 1,04 fue menor al valor crítico de  $F = 4,45$ .

En lo que respecta a los grupos a los cuales se les sustituyó parcialmente la proteína de la dieta control con la HHMb, se encontró que, para el grupo con la dieta 5 % de HHMb el valor calculado fue de 8,23; comparable con el obtenido de 9,5 para un nivel de inclusión de 20 % de forraje de *Leucaena leucocephala* en la alimentación de gallos F1 cuello desnudo x Plymouth Rock (Aguilar-Ramírez *et al.*, 2000), y mayor al encontrado por estos mismos autores para porcentajes de inclusión de 10 %



de *L. leucocephala* 5,6 y porcentajes de inclusión de 10, 20 y 30 % de *Cnidoscopus chayamansa*, respectivamente 4,9; 5,3 y 6,0. A medida que aumentó el porcentaje de sustitución de la proteína de las hojas en la dieta, disminuyó el valor de la CA. Sin embargo, al aplicarse el ANOVA, se encontró que no hubo diferencias significativas entre estos grupos ( $p > 0,05$ ). El valor de  $F$  calculado = 0,54 fue menor al valor crítico de  $F = 3,49$ .

## CONCLUSIONES

- La harina de hojas de *Macrolobium bicuspidum* (HHMb) posee un contenido de proteína (18,6 % base seca) y de minerales calcio (520 mg/100 g), magnesio (188 mg/100 g) y potasio (462 mg/100 g) que sugiere puede ser utilizada en la alimentación de aves.
- No se observó un efecto del bicarbonato de sodio al ser añadido al alimento cuya única fuente de proteínas fue HHMb.
- Al comparar el aumento de peso del grupo de pollos alimentados con la dieta control con la dieta en la cual se sustituyó la proteína control con 5, 10 y 15 % de HHMb, no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre el grupo control y el grupo con sustitución de proteína con un 5 % de HHMb, pero si hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con los otros grupos.
- Los valores de PER para los grupos de pollos a los cuales se les ofreció como alimento HHMb sin  $\text{NaHCO}_3$  y HHMb más 1 %  $\text{NaHCO}_3$  fueron negativos. La proteína de las hojas de *M. bicuspidum* no puede ser utilizada como única fuente de aminoácidos.
- La dieta con 5 % de HHMb fue la mejor luego de la dieta a base de caseína (control), y en esta cantidad porcentual se sugiere en la elaboración de alimento para aves.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abou-Elezz, F.M.K.; Sarmiento-Franco, L. Santos-Ricalde, R. y Solorio-Sanchez, F. 2011. Efectos nutricionales de la inclusión dietética de harina de hojas de *Leucaena leucocephala* y *Moringa oleifera* en el comportamiento de gallinas Rhode Island Red. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 45(2):163-170.
- Aguilar-Ramírez, Jorge; Santos-Ricalde, Ronald; Pech-Martínez, Víctor y Montes-Pérez, Rubén. 2000. Utilización de la hoja de chaya (*Cnidoscopus chayamansa*) y de huaxín (*Leucaena leucocephala*) en la alimentación de aves criollas. Revista Biomédica. 11(1):17-24.
- AOAC. 1990. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. (15ta. ed.). Washington, USA.
- Bender, A.E. and Miller, D.S. 1953. A new brief method of estimating net protein value. The Biochemical Journal. 53(1):vii-viii.
- Broderick, G.A. 1994. Quantifying forage protein quality. In Forage quality, evaluation, and utilization. (pp. 200-228). Madison, Wisconsin, USA: American Society of Agronomy, Inc. - Crop Science Society of America, Inc. - Soil Science Society of America, Inc.
- Dai, N.V.; Bessei, W. and Quang, N.H. 2009. The effects of sodium chloride and potassium chloride supplementation in drinking water on performance of broilers under tropical summer conditions. Archiv für Geflügelkunde. 73(1):41-48.
- Egbewande, O.O.; Jimoh, A.A.; Ibitoye, E.B. and Olorede, B.R. 2011. Utilization of African mistletoe (*Tapinanthus bangwensis*) leaf meal by broiler chickens. Pakistan Journal of Nutrition. 10(1):19-22.
- FAO/OMS. 2001. Food and Agriculture Organization of the United Nations-Organización Mundial de la Salud. Norma del Codex para los productos a base de

- caseína alimentaria. CODEX STAN A-18-1995. Rev.1-2001.
- Fasuyi, A.O. and Akindahunsi, A.O. 2009. Nutritional evaluation of *Amaranthus cruentus* leaf meal based broiler diets supplemented with cellulase/glucanase/xylanase enzymes. American Journal of Food Technology. 4(3):108-118.
- Fasuyi, A.O.; Dairo, F.A.S. and Adeniji, A.O. 2008. Tropical vegetable (*Amaranthus cruentus*) leaf meal as alternative protein supplement in broiler starter diets: bionutritional evaluation. Journal of Central European Agriculture. 9(1):23-34.
- Gakuya, D.W.; Mbugua, P.N.; Kavoi, B. and Kiama, S.G. 2014. Effect of supplementation of *Moringa oleifera* leaf meal in broiler chicken feed. International Journal of Poultry Science. 13(4):208-213.
- Hegsted, D.M. 1971. Methods of estimating protein quality. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/009/ae906e/ae906e24.pdf>
- Hontiveros, Gaily Jubie S. and Serrano Jr., Augusto E. 2015. Nutritional value of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) leaf protein concentrate for aquafeeds. AACL Bioflux. 8(1):26-33.
- Iheukwumere, F.C.; Ndubuisi, E.C.; Mazi, E.A. and Onyekwere, M.U. 2008. Performance, nutrient utilization and organ characteristics of broilers fed cassava leaf meal (*Manihot esculenta* Crantz). Pakistan Journal of Nutrition. 7(1):13-16.
- Jankowski, J.; Zduńczyk, Z.; Juśkiewicz, J. and Kwieciński, P. 2011. The effect of different dietary sodium levels on the growth performance of broiler chickens, gastrointestinal function, excreta moisture and tibia mineralization. Journal of Animal and Feed Sciences. 20(1):93-106.
- López-M., Fredy; Caicedo-G., Alex y Alegría-F., Gustavo. 2012. Evaluación de tres dietas con harina de hoja de bore (*Alocasia macrorrhiza*) en pollos de engorde. Revista MVZ Córdoba. 17(3):3236-3242.
- Maciejewicz-Rys, Julita and Hanczakowski, Piotr. 1990. Improvement of the nutritive value of cereals by leaf protein supplementation. Journal of the Science of Food and Agriculture. 50(1):99-104.
- Marín, Alfredo; Carías, Diamela; Cioccia, Anna María y Hevia, Patricio. 2003. Valor nutricional de los follajes de *Musa paradisiaca* y *Clitoria ternatea* como diluyentes de raciones para pollos de engorde. Interciencia. 28(1):51-56.
- Melesse, A.; Tiruneh, W. and Negesse, T. 2011. Effects of feeding *Moringa stenopetala* leaf meal on nutrient intake and growth performance of Rhode Island Red chicks under tropical climate. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 14(2):485-492.
- Monforte, Juana; Carías, Diamela; Cioccia, Anna María y Hevia, Patricio. 2002. Valor nutricional de las harinas de *Clitoria ternatea* y *Brachiaria humidicola* en la alimentación de pollos de engorde. Interciencia. 27(1):33-38.
- Naseem, M.T.; Naseem, Shamoos; Younus, M.; Iqbal Ch., Zafar; Ghafoor, Aamir; Aslam, Asim and Akhter, S. 2005. Effect of potassium chloride and sodium bicarbonate supplementation on thermotolerance of broilers exposed to heat stress. International Journal of Poultry Science. 4(11):891-895.
- NRC. 1994. National Research Council. Nutrient requirements of poultry. Ninth revised edition. Washington, D. C., USA: National Academy Press.
- Okafor, I.N.; Ezebuo, F.C. and Azodo, N.T. 2014. Effect of *Moringa oleifera* leaf protein concentrate supplemented feed on growth and nutritional parameters in broilers. World Applied Sciences Journal. 32(1):133-138.

- Okereke, Chioma J. and Akaninwor, Joyce O. 2013. The protein quality of raw leaf, seed and root of *Moringa oleifera* grown in Rivers State, Nigeria. *Annals of Biological Research*. 4(11):34-38.
- Osborne, Thomas B.; Mendel, Lafayette B. and Ferry, Edna L. 1919. A method of expressing numerically the growth-promoting value of proteins. *The Journal of Biological Chemistry*. 37:223-229.
- Paredes-López, Octavio. 1999. *Molecular biotechnology for plant food production*. Lancaster, PA, USA: Technomic Publishing Company, Inc.
- Puron, Diego; Santamaria, Raul and Segura, Jose C. 1997. Sodium bicarbonate and broiler performance at high stocking densities in a tropical environment. *The Journal of Applied Poultry Research*. 6(4):443-448.
- Rodríguez, Pablo; Pérez, Elevina; Guzmán, Romel and Dufour, Dominique. 2011. Characterization of the proteins fractions extracted from leaves of *Amaranthus dubius* (*Amaranthus* spp.). *African Journal of Food Science*. 5(7):417-424.
- Rodríguez-R., Julio C. 1997. Valor nutritivo de la Bora *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms en relación a su utilización como forraje. *Zootecnia Tropical*. 15(1):51-65.
- Rosas-Romero, Alfredo. and Díaz, Ana Cristina. 1983. Composition of plantain leaves (*Musa paradisiaca* L., subsp. *normalis* O. Kze.). A possible source for leaf protein concentrate. *Acta Científica Venezolana*. 34(1):72-73.
- Silva-S., Walter; Arbaiza-F., Teresa; Carcelén-C., Fernando y Lucas-A., Orlando. 2003. Evaluación biológica en ratas de laboratorio (*Rattus norvegicus*) de fuentes proteicas usadas en alimentos comerciales para perros. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 14(1):18-23.
- Singh, Suman; Varshney, V.K.; Wahi, Nitin and Khan, Lutful Haque. 2014. Isolation and biochemical analysis of leaf protein concentrates from the leaves of *Shorea robusta*. *Pakistan Journal of Nutrition*. 13(9):546-553.
- Soledad, B.E.; Adames, J. y Alba, D.M. 1998. Evaluación nutricional de las hojas de grifo negro (*Macrolobium bicuspidatum*). *Acta Científica Venezolana*. 49(Supl. 2):330.
- Soledad-R., Beatriz; Adames-M., José y Luzardo, Melissa. 2004. Estudio nutricional de las hojas de grifo negro (*Macrolobium bicuspidatum*). *TEKHNE*. 7:40-49.
- Tesfaye, Etalem; Animut, Getachew; Urge, Mengistu and Dessie, Tadelle. 2013. *Moringa olifera* leaf meal as an alternative protein feed ingredient in broiler ration. *International Journal of Poultry Science*. 12(5):289-297.
- Urribarrí-C., L., Ferrer-O., A. y Colina, A. 2004. Extracción y precipitación de las proteínas solubles del pasto elefante enano (*Pennisetum purpureum* Schum cv. Mott). *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 21(3):264-275.
- Vieira, S.L.; Penz, A.M. Jr.; Pophal, F.; and de Almeida, J Godoy. 2003. Sodium requirements for the first seven days in broiler chicks. *The Journal of Applied Poultry Research*. 12(3):362-370.
- Villanueva, Juan y San Martín, Felipe. 1997. Alimentación de vaquillas en crecimiento a base de residuos de cosecha tratada con urea y suplementadas con proteína sobrepasante. *Revista de Investigaciones Pecuarias IVITA (Perú)*. 8(1):39-48.
- Yousefian, Mehdi; Hedayatifard, Masoud; Fahimi, Shahram; Shikholeslami, Mojtaba; Irani, Mehdad; Amirinia, Cyrus and Mousavi, Seyed Ehsan. 2012. Effect of prebiotic supplementation on growth performance and serum biochemical parameters of kutum (*Rutilus frisii kutum*) fries. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 7(8):684-692.
- Zduńczyk, Zenon; Jankowski, Jan; Juśkiewicz, Jerzy and Kwieciński, Piotr. 2012. The response of the gastrointestinal tract of broiler chickens to different dietary levels and sources of sodium. *Veterinarija ir Zootecnika*. 60(82):92-98.