



ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

## Tamizaje fitoquímico y cuantificación de lípidos presentes en el fruto seco de *Samanea saman*

### Phytochemical screening and quantification of lipids present in the dried fruit of *Samanea saman*

Jorge Candelario Milián Domínguez<sup>1\*</sup>, Yosbel Ganges Alonso<sup>2</sup>,  
 Griseida María Pérez Martín<sup>2</sup>, Humberto Valdés Márquez<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidad de Pinar del Río "Hermanos Saiz Motes de Oca" (UPR), calle Martí 270 Final, Pinar del Río, Cuba

<sup>2</sup>Departamento de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Ciencias Forestales y Agropecuarias, Universidad de Pinar del Río "Hermanos Saiz Montes de Oca" (UPR), calle Martí 270 Final, Pinar del Río, Cuba

#### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Recibido: 25/04/2019

Aceptado: 26/04/2021

#### CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses para la publicación de este artículo.

#### CORRESPONDENCIA

Jorge Candelario Milián Domínguez  
[jorgemdo@upr.edu.cu](mailto:jorgemdo@upr.edu.cu)  
Humberto Valdés Márquez  
[humberto.valdes@upr.edu.cu](mailto:humberto.valdes@upr.edu.cu)



Cu-ID: <https://cu-id.com/2153/cag061222354>

#### RESUMEN

Los árboles de *Samanea saman* (Jacq.) Merr. son frecuentes en las áreas de pastoreo (potreros o cuarterones) dedicados al ganado, conociéndose empíricamente que estos animales, cuando se refugian del sol, consumen los frutos secos que caen al piso. La investigación tuvo como objetivo determinar la presencia de metabolitos secundarios y el contenido de lípidos en el fruto seco de esta planta. Los frutos para el estudio fueron obtenidos de los árboles existentes en la Finca Integral "El Algarrobo", perteneciente al municipio Pinar del Río, provincia del mismo nombre, en el periodo comprendido entre abril y junio de 2018. El área se caracteriza por presentar un suelo Pardo. Se tomaron muestras de frutos de ocho árboles, mediante un muestreo aleatorio simple para contar con muestras de los diferentes estratos de la planta. Se cuantificaron los lípidos presentes en el extracto etéreo de fruto seco de *S. saman* y se prepararon otros extractos para el tamizaje fitoquímico. Para la determinación de los lípidos se aplicó una técnica combinada a partir de éter de petróleo. Se obtienen resultados que demuestran que los frutos de esta especie constituyen un potencial importante para alimentar el ganado menor en el territorio en épocas de sequía.

**Palabras clave:** alimentación, metabolitos secundarios, samán

#### ABSTRACT

*Samanea saman* (Jacq.) Merr. trees are frequent in grazing areas (pastures or barns) dedicated to cattle, and it is empirically known that these animals, when they take shelter from the sun, consume the nuts that fall to the ground. The objective of the research was to determine the presence of secondary metabolites and lipid content in the dried fruit of this plant. The fruits for the study were obtained from existing trees in the Finca Integral "El Algarrobo", belonging to the municipality Pinar del Río, province of the same name, in the period between April and June 2018. The area is characterized by presenting a Brown soil. Fruit samples were taken from eight trees, by simple random sampling to have samples

of the different strata of the plant. The lipids present in the ethereal extract of dried fruit of *S. saman* were quantified and other extracts were prepared for phytochemical screening. A combined technique using petroleum ether was applied for lipid determination. The results show that the fruits of this species constitute an important potential for feeding small livestock in the territory in times of drought.

**Keywords:** feeding, secondary metabolites, saman

## INTRODUCCIÓN

Los ácidos grasos son componentes importantes de cuantiosas clases de moléculas lipídicas. Se encuentran en primera instancia en los triacilglicérols y en numerosas clases de moléculas lipídicas unidas a las membranas. Están formados por un hidrocarburo de cadena larga unido covalentemente a un grupo carboxilato. Las cadenas de los ácidos grasos que sólo contienen enlaces sencillos carbono-carbono se denominan saturadas, mientras que las moléculas que contienen uno o varios dobles enlaces se denominan insaturadas (McKee y McKee, 2013). Los ácidos grasos forman parte de los fosfolípidos y glucolípidos, moléculas que constituyen la bicapa lipídica de todas las membranas celulares.

Según Hoyos y Rosales (2014), estos compuestos tienen funciones como aportadores de energía, estructuradores de la membrana celular, protectores de órganos, mediadores hormonales, entre otros, por lo que convierten en indispensables para la vida. Además, los lípidos juegan un importante papel durante la gestación, y en este periodo tienen lugar cambios importantes en el metabolismo lipoproteico (Ferriols *et al.*, 2016).

Los lípidos son macronutrientes que aportan energía al cuerpo por lo que se investiga el contenido de lípidos en el fruto de *Samanea saman* dado el aporte energético de las grasas a la dieta animal y el aporte que puede hacer en contenido presente en estos frutos. Esto puede constituir una nueva alternativa en la alimentación animal dado que *S. saman* se encuentra ampliamente distribuido en los campos de la provincia de Pinar del Río.

El conocimiento del contenido de cada alimento suministrado a los animales desde el punto de vista químico y bromatológico es de vital importancia. Dado que *S. saman* es una especie poco estudiada, este trabajo se planteó como objetivo general determinar la presencia de metabolitos secundarios y cuantificación de lípidos presentes en el fruto verde y seco de *S. saman*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Selección y características del área de estudio

El estudio se desarrolló en la finca “El Algarrobo” de la Cooperativa de Créditos y Servicios (CCS) “Pedro Salden” del municipio Pinar del Río, donde existe una población abundante de la especie *S. saman* en diferentes estadios de

desarrollo. Además, por su cercanía al área de investigación lo que facilitó la transportación de la materia prima.

### Toma de muestra de frutos verdes y secos de *S. saman*

Los frutos se tomaron de árboles en pie, con edades comprendidas entre 12 y 15 años entre los meses de abril y junio de 2018. El muestreo se realizó de forma aleatoria, los frutos se tomaron de ocho árboles. Se realizó un muestreo en cada uno de los árboles en forma diagonal a diferentes partes del mismo: arriba, inferior, centro derecho e izquierdo.

### Análisis de la calidad de la muestra

Se determinaron algunos parámetros e índices de calidad del material recolectado *i.e.* porcentaje de humedad y pH. Para el porcentaje de humedad se utilizaron muestras de frutos verdes y maduros. El pH de la disolución se determinó con 50 mL del extracto acuoso y alcohólico de la muestra mediante potenciometría directa en pH metro (HANNA, USA).

### Porcentaje de humedad

El cálculo del porcentaje de humedad se realizó siguiendo el criterio de Álvarez y Meléndez (2005).

$$m(\text{agua}) = m(h) - m(s)$$

m (h) - masa húmeda

m (s) - masa seca

$$W\% = \frac{m(\text{agua})}{m(\text{muestra})} * 100$$

### Procesamiento de la muestra

Los frutos fueron trasladados al laboratorio de investigaciones del Centro de Estudios Forestales de la Universidad de Pinar del Río, donde como paso inicial e imprescindible, es desfibrado manualmente, para obtener partículas de 7-8 mm, según Yagodin (1981) y Ortega (2010). Esto facilitó la extracción de las diferentes sustancias y los componentes activos presentes en los mismos. Se obtuvo un material fino para ser utilizado en la elaboración de los extractos.

### Obtención de los extractos para el estudio fitoquímico inicial

Los extractos se prepararon pesando 30 g del material vegetal en 150 mL de cada solvente, empleando solventes de diferentes polaridades, éter de petróleo, etanol y agua destilada. Se maceró por espacio de 48 h. Se comenzó con el

éter de petróleo y después se filtró al vacío con bomba (Welch IImvac, USA). Posteriormente, el residuo vegetal fue macerado en alcohol etílico al 90 % y después de la extracción alcohólica, por último, macerada en agua destilada (Cordero y Oreaga, 2002).

### Tamizaje fitoquímico del fruto maduro de *S. saman*

Para el tamizaje fitoquímico se siguió el esquema propuesto por Nogueira y Spengler (1994), que plantea la extracción a partir de solventes de polaridades diferentes en orden creciente *e.g.* éter de petróleo, alcohol etílico y agua destilada.

En la identificación de los metabolitos secundarios se emplearon pruebas o técnicas simples, rápidas y selectivas para un determinado compuesto, realizándose a cada extracto aquellos ensayos específicos para los metabolitos que de acuerdo a su solubilidad podían haber sido extraídos en cada solvente. Algunos de los ensayos que se realizaron *i.e.* Dragendorff para determinar alcaloides (Domínguez, 1973), tricoloruro férrico para fenoles y taninos, Shinoda para determinar flavonoides, Ninhidrina para detectar proteínas, Fehling, Benedict y Molisch para azúcares y Sudan para ácidos grasos entre otros (Nogueira y Spengler, 1994). Además, se realizaron otros ensayos como Biuret, Shakaguchi, Hopkins-cole, SH, Titulación, Colorimetría que indican la presencia de polipéptidos y proteínas, proteínas, triptófano, aminoácidos azufrados, vitamina C y hierro (Álvarez y Meléndez, 2005).

Una vez concluido el tamizaje fitoquímico se procedió a la cuantificación los lípidos, realizando tres réplicas para cada ensayo. Para cuantificar los lípidos se siguió la técnica propuesta por Cordero y Oreaga (2002). Se pesaron de 3 g (se pueden tomar los gramos de la muestra en función del Soxhlet). La muestra se cubrió con papel filtro. Se montó el equipo (el matraz/ balón previamente a peso constante). Se añadió por el condensador una cantidad suficiente de éter para obtener tres descargas del extractor (medir 160 mL de éter) y se hizo circular el agua por el condensador y se inició el calentamiento del matraz. Se colocó la muestra en el Soxhlet y se introdujo en un baño a 50 - 60 °C durante 6 - 7 h de extracción (6 a 7 min comenzó el goteo del sistema). La extracción se realizó con éter etílico. Posteriormente, se atemperó y pesó hasta la obtención del peso constante. Se calculó el porcentaje de humedad mediante la siguiente fórmula:

$$X = \frac{M_1 - M_o}{M_2} \times 100$$

M<sub>1</sub> - masa del balón más el contenido de grasa

M<sub>2</sub> - masa de la muestra seca

M<sub>o</sub> - masa del balón vacío

Después de la extracción con éter el contenido del balón (grasa + éter), se destiló y quedó en el balón solo grasa.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los frutos son legumbres o vainas (8 a 20 cm de largo, 15-19 mm de ancho, y 6 mm de espesor). Estos datos coinciden con los informados por Delgado *et al.* (2014) en la zona oriental de Cuba. Los frutos en la zona occidental son más pesados con un promedio de 17,65 g que los del oriente cubano con un peso de 11,23 g. Estas diferencias de peso pueden deberse a las condiciones climatológicas de cada zona, además de las características edafológicas de los suelos. Las vainas son rectas o ligeramente curvas, verdes y carnosas antes de madurar, y oscuras, color marrón, una vez que maduran. Contienen una pulpa seca, oscura, dulce y nutritiva, que rodea las semillas. Según Vozzo (2010), la maduración del fruto se produce de febrero a mayo.

### Análisis de la calidad de la muestra

La determinación del contenido de humedad de las muestras aparece en la tabla 1. Se aprecia el elevado índice de humedad del fruto verde que marca una diferencia con los frutos secos. Esta condición hace que los frutos verdes no puedan ser conservados por un periodo prolongado, ni guardarse después de molinado, pues el agua que contiene produce la fermentación de los azúcares existentes y pierde las características que los pueden hacer atractivos para los animales.

Tabla 1. Parámetros de humedad de las muestras

Frutos	Masa húmeda (g)	Masa seca (g)	Contenido de agua (g)	Por ciento de humedad (%)
verde	12,6	7,2	5,4	42,8
seco	16	15,3	0,7	4,3

### Tamizaje fitoquímico y otros ensayos

Una vez obtenido los extractos se procedió a realizar el tamizaje fitoquímico obteniéndose los resultados siguientes (Tablas 2 y 3).

Al hacer una comparación de los resultados puede comprobarse que en ambos casos están presentes metabolitos de interés para la alimentación de las crías de ganado menor como carbohidratos aminoácidos y proteínas, siendo los extractos acuosos y alcohólicos los que más presencia evidenciaron. Los carbohidratos son el componente principal para mantener un buen funcionamiento del rumen, ya que aportan energía a los microorganismos ruminales y al animal (Pinares-Patiño *et al.*, 2003; Agualongo, 2018). Estos aportan un elevado contenido energético a los frutos.

El tamizaje fitoquímico de las vainas de *S. saman* reveló la presencia de moderadas cantidades de los principales metabolitos secundarios, entre ellos de ácidos grasos,

saponinas, esteroides, alcaloides, flavonoides, taninos y resinas, pero no se observó la presencia de los terpenoides, glucósidos, ni compuestos ácidos coincidiendo con [Milián et al. \(2017\)](#). [Carro et al. \(2014\)](#) plantean que la presencia

moderada de saponinas en los frutos pudiera tener un efecto favorable para los animales, ya que el consumo de saponinas aumenta el crecimiento microbiano y disminuye la población de protozoos, la proteólisis y la producción de

**Tabla 2.** Tamizaje fitoquímico de los furtos verdes de *Samanea saman*

Grupo de compuestos	Ensayo	Extractos		
		Etéreo	Alcohólico	Acuoso
Saponinas	Espuma		(+++)	(+++)
Principios amargos y astringentes	Sabor			(++)
Alcaloides	<i>Dragendorff</i>	(-)	(++)	(+++)
	<i>Wagner</i>			
Aminoácidos y aminas	Ninhidrina		(+++)	
Azúcares reductores	<i>Fehling</i>		(+++)	(++)
Fenoles y taninos	FeCl <sub>3</sub>		(-)	(-)
	Gelatina			
Flavonoides	<i>Shinoda</i>			
Leucoantocianidinas	Leucoantocianidinas			
Mucílagos	Al tacto			(-)
Aceites esenciales y grasas	Sudán	(++)		
	Papel blanco sin reactivo	++		
Coumarinas	<i>Baljet</i>	(+)	(+)	(++)
Carotenos	<i>Carr-Price</i>			
Glicósidos cardiotónicos	<i>Kedde</i>			
Triterpenos y esteroides	<i>Lieberman-Bouchard</i>			
Quinonas	<i>Bornträger</i>			
Resinas		(++)	(++)	(++)

**Tabla 3.** Tamizaje fitoquímico de los frutos secos de *Samanea saman*

Grupo de compuestos	Ensayo	Extractos		
		Etéreo	Alcohólico	Acuoso
Saponinas	Espuma			(-)
Principios amargos y astringentes	Sabor			(++)
Alcaloides	<i>Dragendorff</i>	(-)	(++)	(+++)
	<i>Wagner</i>			
Aminoácidos y aminas	Ninhidrina		(+++)	
Azúcares reductores	<i>Fehling</i>		(+++)	(++)
Fenoles y taninos	FeCl <sub>3</sub>		(++)	(++)
	Gelatina			
Flavonoides	<i>Shinoda</i>			(++)
Leucoantocianidinas	Leucoantocianidinas			
Mucílagos	Al tacto			(-)
Aceites esenciales y grasas	Sudán	(++)		
	Papel blanco sin reactivo	(++)		
Coumarinas	<i>Baljet</i>	(+)	(+)	(++)
Carotenos	<i>Carr-Price</i>			
Glicósidos cardiotónicos	<i>Kedde</i>			
Triterpenos y esteroides	<i>Lieberman-Bouchard</i>			
Quinonas	<i>Bornträger</i>			

metano, lo que favorece la economía del nitrógeno, principalmente con dietas de baja calidad.

La palatabilidad de los frutos del algarrobo para el ganado se reconoce desde hace mucho tiempo. **Anicama y Guerra (2014)** plantean que los frutos de la especie *Prosopis pallida* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth, por sus características nutritivas y su gran palatabilidad, son utilizados también como alimento para el ganado bovino, caprino, ovino, equinos y otros animales domésticos, pudiendo sustituir al maíz y salvado de trigo, en la ración animal.

La principal utilidad del árbol se encuentra en sus vainas carnosas, que se producen en gran abundancia y constituyen un forraje muy bueno para el engorde de todo tipo de animales de pastoreo, que se alimentan de ellos con gusto como bovinos, porcinos, ovinos y caprinos (**Durr, 2001**). Además, **Hernández et al. (2018)** plantean que las vainas de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. y *S. saman* son una alternativa viable para la alimentación de rumiantes en el trópico seco dadas sus características químicas y fermentativas.

El resultado de los ensayos especiales para el fruto seco entero evidencia la presencia de otro importante grupo de compuesto donde se encuentran (**Tabla 4**).

Los resultados de la presente investigación se asemejan a los obtenidos por **Delgado (2014)** al hacer un estudio de los frutos de *S. saman* en la zona oriental de Cuba, aunque se apreció mayor presencia de metabolitos en los estudios realizados en la Provincia de Pinar del Río. Esto puede deberse a que las condiciones climatológicas, los suelos y las operaciones de manejo de la especie son diferentes para ambas regiones del país.

### Quantificación de contenido de lípidos en el fruto entero de *S. saman*

En la **tabla 5** se presentan los resultados obtenidos en la cuantificación de lípidos en los frutos enteros de *S. saman*.

Como se observa, el fruto seco de *S. saman* contiene aproximadamente un 4 % de lípidos, lo que eleva el nivel proteico de este producto forestal no maderable que se desecha en los bosques con un contenido de grasas de 0,08 g (**Tabla 5**). Estos estudios aportan valor agregado a la especie en cuestión, ya que solamente se emplea la madera.

Como se aprecia en los frutos de esta especie, se determinaron cantidades importantes de lípidos, condición indispensable para acentuar sus propiedades como alimento animal, ya que los lípidos aportan niveles de calorías a los alimentos y sobre todo son empleados como reservas energéticas (**Delgado, 2014**). Se sugiere monitorear el contenido de lípidos en los alimentos por poseer propiedades laxantes. Si se comparan los resultados obtenidos en esta investigación realizados entre los meses de abril y junio con los obtenidos por Sanjudo (2018), realizada entre los meses de marzo - abril, se aprecia que el rendimiento óptimo relacionado con el contenido lípido de esta especie está entre los meses de marzo y abril donde se alcanza el 26,479 %, comparados con los 11,9643 % determinados entre los meses de mayo y junio.

## CONCLUSIONES

El tamizaje fitoquímico al fruto verde y seco de *S. saman* evidenció la presencia de alcaloides, azúcares reductores, aminoácidos libres y aminos, y fenoles y taninos. La cuantificación de lípidos demostró la presencia abundante de estos metabolitos en el fruto seco. La presencia de lípidos en el fruto entero de *S. saman* le confiere un alto valor energético y lo convierte en potencial nutricional para la ganadería en el territorio, constituyendo una opción más para el logro de una agricultura sostenible.

**Tabla 4.** Ensayos realizados a los frutos secos de *Samanea saman*

Grupo de compuestos	Ensayo	Extractos		
		Acuoso	Étereo	Alcohólico
Polipéptidos y proteínas	Biuret	++	++	+++
Proteínas	Shakaguchi	++	-	+++
Proteínas-aminoácidos	Ninhidrina	+++	++	+++
Triptófano	Hopkins-cole	-	-	-
Aminoácidos azufrados	SH	-	-	-

**Tabla 5.** Resultado de las determinaciones de lípidos en fruto seco de *Samanea saman*

Ensayos	% de lípidos	Contenido de grasas (11,87 g)
1	4,1308	0,08270
2	3,6150	0,07237
3	4,2185	0,08440
<b>Promedio</b>	<b>3.9881</b>	<b>0.07982</b>

## CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

**Jorge Candelario Milián Domínguez:** Conceptualizó y formuló los objetivos generales de la investigación. Diseñó la investigación. Responsable de la gestión, coordinación, planificación y ejecución de las actividades de investigación. Interpretó los resultados del análisis estadístico y redactó el borrador del manuscrito.

**Yosbel Ganges Alonso:** Responsable de la conservación de los datos y anotaciones tomadas en el transcurso de la investigación. fue el responsable de escribir el manuscrito publicado, específicamente, la redacción del borrador (incluida la rectificación de los señalamientos realizados al mismo por los árbitros y Consejo Editorial).

**Humberto Valdés Márquez:** Contribuyó en la aplicación de las técnicas estadísticas utilizadas para analizar o sintetizar los datos de estudio obtenidos. Hizo la revisión crítica del borrador y recomendó modificaciones, supresiones y adiciones en el mismo. Evaluó y recopiló los datos obtenidos en las pruebas de los experimentos.

**Griseida María Pérez Martín:** Contribuyó en la preparación, creación y presentación del trabajo publicado. Hizo la revisión crítica del borrador y recomendó modificaciones, supresiones y adiciones en el mismo. Evaluó y recopiló los datos obtenidos en las pruebas de los experimentos.

## BIBLIOGRAFÍA

AGUALONGO, A. 2018. Influencia de extractos vegetales y aceite de sacha inchi sobre la fermentación ruminal *in vitro*. Tesis para optar al título de Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Técnica de Ambato, Ecuador, 33 p.

ÁLVAREZ, E. y MELÉNDEZ, J. 2005. Manual de Análisis químico cuantitativo para Ingenieros Forestales. Editorial Félix Varela, La Habana, Cuba, 8 p.

ANICAMA, D. J. y GUERRA GALINDO, S. A. 2014. Tamizaje fitoquímico y características farmacognósticas de hojas, frutos y semillas de *Prosopis pallida* (algarrobo) procedente de la ciudad de Lea. Tesis para optar por el título de Licenciado Químico Farmacéutico. Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, San Luis Gonzaga de Ica, Perú, 67 p.

CARRO, M. D., SARO, C., MATEOS, I., *et al.* 2014. Perspectivas y retos de los extractos vegetales como aditivos alimentarios en rumiantes. *Albeitar*, 179: 4-6.

CORDERO, E. y OREAGA, U. 2002. Técnicas de laboratorio para el trabajo con la biomasa forestal. MINAG, Cuba.

DELGADO, D. C., HERA, R., CAIRO, J., *et al.* 2014. *Samanea saman*, árbol multipropósito con potencialidades como alimento alternativo para animales de interés productivo. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 48 (3): 205-212.

DOMINGUEZ, X. 1973. Métodos de investigación fitoquímica. Limusa, México, 281 p.

DURR, P. 2001. The biology, ecology and agroforestry potential of the raintree, *Samanea saman* (Jacq.) Merr. *Agroforestry Systems*, 51(3): 223-237.

FERRIOLS, E., RUEDA, C., GAMERO, R., *et al.* 2016. Comportamiento de los lípidos durante la gestación y su relación con acontecimientos obstétricos desfavorables. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*, 28 (5): 232-244.

HERNÁNDEZ-MORALES, J., SÁNCHEZ-SANTILLÁN, P., TORRES-SALADO, N., *et al.* 2018. Composición química y degradaciones *in vitro* de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 9 (1): 105-120.

HOYOS, M. y ROSALES CALLE, V. V. 2014. Lípidos: Características principales y su metabolismo. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, 41: 2142-2145.

MCKEE, T. y MCKEE, J. 2013. *Bioquímica. Las bases moleculares de la vida*. McGraw-Hill Interamericana, España, 952 p.

MILIÁN, J. C., IGLESIAS MONROY, O., VALDES, H., *et al.* 2017. Estudio fitoquímico integral del *Samanea saman* de la región occidental de Cuba. *Revista Cubana de Química*, 29(3): 450-462.

NOGUEIRA, C. y SPENGLER, I. 1994. Guía para el tamizaje fitoquímico. MINSAP, Cuba.

ORTEGA, I. 2010. Evaluación de la acción antibacteriana, cicatrizante, y biocida de extractos de follaje verde de *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* y *Corymbia citriodora*. Tesis para optar por el título de Ingeniero Forestal. Universidad de Pinar del Río, Pinar del Río, Cuba.

PINARES-PATIÑO, C., ULYATT, M., LASSEY, K., *et al.* 2003. Persistence of differences between sheep in methane emission under generous grazing conditions. *Journal of Agricultural Science*, 140: 227-233.

VOZZO, J. 2010. *Manual de semillas de árboles tropicales*.  
USDA-Departamento de Agricultura de los Estados  
Unidos de América, Missouri, USA, 168 p.

YAGODIN, V. I. 1981. *Fundamentos de química y  
tecnología para el tratamiento del follaje*. Editorial  
Academia Forestal de Leningrado, URSS.



Artículo de libre acceso bajo los términos de una [Licencia Creative Commons AtribuciónNoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional](#). Se permite, sin restricciones, el uso, distribución, traducción y reproducción del documento, siempre que la obra sea debidamente citada.