

Consumo voluntario y digestibilidad del heno de pasto pajón (*Dichanthium annulatum*) tratado con un complejo enzimático y uno nitrogenado^{1,2}

Joaquín Caridad del Rosario³, Elide Valencia-Chin⁴,
Rafael Ramos-Santana⁴, Paul F. Randel⁵ y Ernesto O. Riquelme⁵

J. Agric. Univ. P.R. 98(1):57-71 (2014)

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de dos aditivos: uno de índole enzimática y comercializada [Dyadic® Cellulase PLUS (ENZ)] y otro nitrogenado [urea líquida (ULI)] sobre la proteína bruta (PB), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácida (FDA), consumo voluntario (CV) y digestibilidad del heno de pasto pajón (HPP) alimentado a carneros. Se utilizaron nueve carneros en un diseño de cuadrado latino (3 x 3) con los tres tratamientos: HPP sin aditivo (CON), y HPP con ENZ y con ULI. Se rociaron los aditivos sobre el heno 24 horas antes de ofrecerlo diariamente, a razón de 4% del peso vivo (PV) de los animales. La aplicación de la ENZ no resultó en cambios de importancia en composición química, CV, ni digestibilidad de materia seca (MS) o las fracciones PB, FDN y ácido FDA. Solo hubo ligeras tendencias a reducir ($p = 0.11$) el contenido de FDN (73.91 vs. 74.27%) y a aumentar ($p = 0.09$) la FDA (44.37 vs. 42.87%). El rociado del HPP con ULI aumentó ($p < 0.01$) el contenido de PB (8.11 vs. 6.41%), tendió a reducir ($p < 0.11$) la proporción de FDN (73.0 vs. 74.27%), a aumentar ($p < 0.09$) y la FDA (43.17 vs. 42.87%) y lignina (6.30 vs. 5.89%); aumentó el consumo de PB ($p < 0.01$) (87.46 vs. 67.25 g) y tendió ($p < 0.06$) a aumentar la MS (1027 vs. 986 g) y la digestibilidad de la PB ($p < 0.10$) (61.11 vs. 53.98%). El CV de la MS como porcentaje del PV animal, no fue afectado significativamente (3.13, 2.94 y 3.23% para CON, ENZ y ULI, respectivamente).

Palabras clave: enzima fribrolítica, urea líquida, consumo voluntario, digestibilidad

¹Manuscrito sometido a la Junta Editorial el 18 de abril de 2013.

²Esta investigación se realizó con fondos del programa del USDA-Tropical and Sub-tropical Agricultural Research (ZTS-055).

³Exestudiante graduado, Departamento de Cultivos y Ciencias Agroambientales.

⁴Catedrático, Departamento de Cultivos y Ciencias Agroambientales, Box 9000, Universidad de Puerto Rico, Mayagüez, PR 00681.

⁵Catedrático, Departamento de Ciencia Animal.

ABSTRACT

Voluntary intake and digestibility of bluestem (*Dichanthium annulatum*) hay treated with an enzyme or N source

The objective of this study was to evaluate the effect of two additives: one of enzymatic nature [Dyadic® Cellulase PLUS (ENZ)] and liquid urea nitrogen (LU) on crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), voluntary intake (VI) and digestibility of treated bluestem grass (BGH; *Dichanthium annulatum*) hay fed to rams. Nine young rams were used in a 3 x 3 latin square design with the three treatments: BGH without additive (CON), and with added ENZ or LU. The additives were sprinkled over the hay 24 hours prior to being offered daily at the rate of 4% of the animal body weight (BW). Application of ENZ resulted in no important change in VI or digestibility of dry matter (DM), CP, NDF or ADF; but ENZ tended to slightly reduce ($p < 0.11$) NDF content (73.91 vs. 74.27%), and increase ($p < 0.09$) ADF content (44.37 vs. 42.87%). Treatment of BGH with LU increased ($p < 0.01$) the content of CP (8.11 vs. 6.41%), tended to depress ($p < 0.11$) that of NDF (73.00 vs. 74.27%) and increase ($p < 0.09$) those of ADF (43.17 vs. 42.87%) and lignin (6.30 vs. 5.89%). It also increased VI of CP (87.46 vs. 67.25%) and tended ($p < 0.06$) to increase VI of DM (1027 vs. 986 g) and CP digestibility (61.11 vs. 53.98%). Daily VI of DM as a percentage of BW was not significantly affected by the treatments (3.13, 2.94 and 3.23% for CON, ENZ and LU, respectively).

Key words: fibrolytic enzyme, liquid urea, voluntary intake, digestibility

INTRODUCCIÓN

La conservación de gramíneas tropicales en forma de heno ha aumentado en las últimas décadas y juega un papel importante como fuente complementaria de forrajes en la industria lechera de Puerto Rico, que no cuenta hoy día con suficientes áreas para pastoreo. Según la Oficina para la Reglamentación de la Industria Lechera (2008), en el período de 2000 hasta 2008 el área de terrenos dedicados a pastos en las vaquerías de Puerto Rico se redujo en un 22.5% y el número de las unidades animales presentes en un 16%. Las vacas lecheras requieren en la dieta total un mínimo de alrededor de 34% de fibra detergente neutro (FDN) de alta calidad y un 21% de fibra detergente ácida (FDA) en base seca (BS) para el buen funcionamiento del rumen y un adecuado contenido de grasa en la leche, además de 16% de proteína bruta (PB) (National Research Council, 2001).

Las gramíneas tropicales utilizadas para heno, generalmente, no cumplen con los requerimientos necesarios para la alimentación de la vaca lechera (Newman et al., 2007; Brown y Adjei, 1995). Comúnmente estas se caracterizan por su bajo valor nutritivo producto del avanzado estado de madurez en que se cosechan (mayor de ocho a 12 semanas), lo cual influye negativamente en el valor nutritivo y el consumo voluntario.

Las gramíneas conservadas que se producen en la región sur de Puerto Rico son, en su mayoría, de especies naturalizadas, tales como el pasto pajón (*Dichanthium annulatum*), guinea (*Panicum maximum* Jacq.) o mezclas de otras gramíneas tropicales. La oferta de henos de especies mejoradas como el de pasto pangola (*Digitaria eriantha*) está limitada en el mercado debido a factores de manejo y climatológicos. El heno de la especie citada posee en promedio 5% de PB, 45% de FDA y 68% de FDN (Sultan et al., 2008). Es necesario identificar pastos de mejor valor nutritivo para henificar o ensilar, o mejorar el manejo de los ya existentes para maximizar su utilización por las vacas lecheras.

En los últimos años se han investigado distintos tratamientos químicos para mejorar el valor nutritivo de las gramíneas tropicales conservadas. En el proceso de ensilaje se ha utilizado como aditivo enzimas exógenas del tipo oligosacaridasas para mejorar la fermentación (Adesogan et al., 2004; Rodríguez et al., 2001), también se ha probado rociar el producto fibrolítico enzimático sobre el forraje al momento de alimentar a los rumiantes para mejorar su consumo voluntario (CV) y digestibilidad (Tous-Rivera et al., 2010; Giraldo et al., 2008; Avellaneda et al., 2009; Elwakeel et al., 2007). En otras investigaciones se ha rociado urea líquida sobre el forraje antes de henificarlo para mejorar su contenido de PB (Almodóvar et al., 2008; Rodríguez et al., 2007). Tradicionalmente se ha usado la urea combinada con melaza para aumentar los niveles dietéticos de nitrógeno utilizando caña de azúcar como dieta básica (Preston y Willis, 1974; Silvestre et al., 1977; Ravelo et al., 1978). Estas iniciativas se justifican por los conocidos efectos adversos de la madurez avanzada de las gramíneas tropicales sobre su valor nutritivo.

En una investigación local, Tous-Rivera et al. (2010) demostraron aumentos en el CV y mejoras en la composición química mediante el rociado de enzimas exógenas sobre el pasto guinea de ocho semanas de edad. Sin embargo, se requieren estudios adicionales tocantes al potencial de las enzimas fibrolíticas o la urea en forma líquida para el tratamiento de otras gramíneas tropicales de amplio uso en la isla. El objetivo del presente estudio es determinar el efecto sobre la composición química, CV y digestibilidad de nutrientes del heno de pasto pajón al adicionarle una enzima fibrolítica o un compuesto que aporte nitrógeno no proteico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en la Subestación Experimental Agrícola de Corozal del Recinto Universitario de Mayagüez de la Universidad de Puerto Rico. Se utilizó heno de pasto pajón (HPP), de más de 24 sema-

nas de edad, adquirido en una finca privada, en el municipio de Cabo Rojo. Se trató el heno con dos aditivos uno enzimático del tipo zootécnico y otro nitrogenado del tipo nutricional. Se usó la preparación enzimática comercial Dyadic® Cellulase PLUS⁶ (ENZ; con actividad celulasa micótica proveniente de *Trichoderma reesei*), mientras que la fuente de nitrógeno fue urea líquida (ULI) procedente de la industria farmacéutica local (Cuadro 1).

Los tres tratamientos evaluados fueron: un control (CON; HPP sin aditivo), HPP con ENZ, y HPP con ULI. Luego de reducir el tamaño de partícula del heno (7 cm de largo) con una troceadora comercial (Briggs & Statton) para minimizar la selectividad en el consumo, el HPP se roció diariamente con los aditivos de acuerdo a los tratamientos, utilizando una bomba asperjadora, y se almacenó en bolsas plásticas por 24 horas. La dosis usada se seleccionó de acuerdo al nivel que ha sido efectivo en estudios previos [Romero et al. (2011), con ENZ y pasto bermuda *in vitro*; Rodríguez et al. (2007), con ULI en ovinos]. La ENZ se aplicó a razón de 2.33 g/kg de materia seca (MS) del heno, mientras que la inclusión de ULI fue equivalente a 4% del peso del heno a ofrecer en BS. Ambos aditivos se diluyeron 1:10 en agua destilada para su aplicación (Romero et al., 2011; Rodríguez et al., 2007). Los henos se ofrecieron diariamente, a una hora fija en la mañana a razón de 4% del peso vivo (PV) animal. Se ubicaron nueve carneros (Dorper x St. Croix White), de 32.0 ± 10 kg PV, en jaulas metabólicas con comedero y bebedero individual, además de colectores de heces. Los carneros se examinaron semanalmente para síntomas de anemia según el método

CUADRO 1.—Descripción de los aditivos (enzimático y nitrogenado) evaluados.¹

	Enzima fibrolítica	Urea líquida
Nombre comercial	Dyadic® Cellulase PLUS	Urea
Fuente (microorganismos)	<i>Trichoderma reesei</i>	Farmacéutica
Ingrediente activo	Celulasa	Nitrógeno no proteico
Enzimas activas	Celulasa, β-glucanasa	—
Razón de aplicación recomendada	2.33 g/kg MS	4% MS consumida
pH óptimo	4.5 ± 0.5	
Temperatura óptima	40 – 57° C	
Actividad enzimática celulasa	30,000 – 36,000 UI/g	

¹Información suministrada por fabricante.

⁶Las marcas registradas solo se usan para proveer información específica y su uso no constituye garantía por parte de la Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico ni endoso sobre otros productos o equipo que no se mencionan.

FAMACHA (De León y Choque-López, 2010), pero no hubo evidencia de estos síntomas, por tanto no se aplicó antihelmíntico.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño en cuadrado latino 3 x 3, en el que se dispuso de tres tratamientos, tres períodos y nueve unidades experimentales. La unidad experimental fue un carnero entero de 32 kg PV promedio que se asignó aleatoriamente a una de tres secuencias de los tratamientos. El experimento tuvo una duración de 42 días, entre los meses de junio y julio 2011, con tres períodos de 14 días, dividido cada periodo en: una etapa de adaptación previa de siete días, cinco días de recolección de datos comparativos y dos días de descanso.

Recolección de datos

Los carneros se pesaron al comienzo y al final de cada período experimental para ajustar el alimento ofrecido. Diariamente se cuantificó y se tomó muestras tanto del forraje ofrecido como del rechazado por cada animal, así como de las heces fecales totales. Muestras de cada tipo se pesaron y se colocaron en un horno a temperatura controlada para determinar su contenido de MS. Luego de combinar las muestras diarias por animal en muestras compuestas, estas se molieron a través de un cedazo de 1 mm de porosidad y se almacenaron a temperatura ambiente. Las muestras se enviaron a un laboratorio privado (Dairy One Lab, Ithaca, NY) para determinar su contenido de MS, PB, materia inorgánica (MI), FDN, FDA y lignina, según la metodología estándar de AOAC (1996) y la de Van Soest et al. (1991). Se determinó el CV de MS y de varias de las otras fracciones citadas mediante el cálculo de lo ofrecido menos lo rechazado, según las respectivas concentraciones dietéticas. Tomando como base las concentraciones fecales de las fracciones analizadas y la cantidad de excreción fecal, se obtuvo la digestibilidad aparente *in vivo* de MS, PB, FDN y FDA.

Análisis estadísticos

Para analizar el cambio en la composición química del heno por efecto de la adición del producto enzimático y del nitrogenado, se aplicó un análisis de varianza (Infostat, 2008) de acuerdo a un diseño completamente al azar con nueve repeticiones por tratamiento. Los datos de consumo voluntario y digestibilidad de nutrientes se sometieron a un análisis de varianza para tres factores (tratamiento, período y animal) utilizando un modelo general lineal de Infostat (2008). En casos de diferencias significativas, la separación de medias fue mediante la prueba de Tukey, estableciendo un valor de significancia a $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química

La composición química del heno de pasto pajón (24 semanas de rebrote) utilizado en este estudio (vea tratamiento control en Cuadro 2) mostró valores típicos de gramíneas tropicales (Combellas et al., 1971) henificadas a edad avanzada. Esto lo manifiesta la baja concentración de PB y los altos contenidos de las fracciones en la pared celular (FDN, FDA, hemicelulosa y lignina).

Los valores de la composición química 24 horas después de aplicar ENZ o ULI al HPP, también aparecen en el Cuadro 2. El contenido de MS del material vegetal no resultó afectado significativamente ($p < 0.14$) por la aplicación de los aditivos. Los porcentajes de materia orgánica (MO) y MI también mostraron solo cambios ligeros, sin existir diferencias significativas entre los tratamientos. En cambio, la concentración de PB aumentó ($p < 0.01$) por 1.70 y 1.89 unidades porcentuales cuando se roció el HPP con ULI sobre los valores de los respectivos tratamientos CON y ENZ. La diferencia de 0.19 unidades porcentuales entre CON y ENZ no fue significativa. La proporción de FDN decreció por 0.91 unidades porcentuales con la aplicación de ULI comparada con la ENZ y por 1.27 unidades frente a CON, mientras que la diferencia entre estos dos últimos fue de solo 0.36 unidad, sin que ninguna de estas diferencias fuera significativa. En cambio, el contenido de FDA fue menor para CON y se verificó una tendencia ($p < 0.09$) a aumentar esta fracción al aplicar los aditivos, siendo la magnitud del aumento de

CUADRO 2.—Composición química porcentual de heno de pasto pajón con o sin aditivo enzimático o nitrogenado.

Componente	Tratamientos ¹			
	CON	ENZ	ULI	EEM ²
Materia seca	91.99	92.03	92.26	0.10
Materia orgánica ^{3,4}	92.55	92.40	92.52	0.08
Materia inorgánica ⁴	7.45	7.60	7.48	0.08
Proteína bruta ⁴	6.41 b ⁵	6.22 b	8.11 a	0.06
FDN ⁴	74.27	73.91	73.00	0.41
FDA ⁴	42.87	44.37	43.17	0.47
Hemicelulosa ^{4,6}	31.40	29.54	29.83	0.61
Lignina ⁴	5.89	5.76	6.30	0.19

¹CON = Control, ENZ = Celulasa (Dyadic® Cellulase PLUS), ULI = Urea líquida.

²Error estándar de la media (nueve observaciones).

³100 - materia inorgánica.

⁴Datos en base seca.

⁵Medias con letras iguales en la misma fila no difieren significativamente a $p < 0.05$.

⁶Diferencia entre FDN-FDA.

1.50 y 0.30 unidades porcentuales para ENZ y ULI, respectivamente. Dado el método de su cálculo, la hemicelulosa tiende a variar directamente con la FDN e inversamente con la FDA, siendo en este caso mayor para CON por márgenes de 1.86 y 1.57 unidades porcentuales relativo a ENZ y ULI, respectivamente ($p < 0.10$). El contenido de lignina del HPP no fue diferente entre los tratamientos.

Estos resultados son compatibles con los de Kung et al. (2000) que no hallaron diferencias en las fracciones de FDN, FDA y hemicelulosa del forraje (ensilaje de maíz y heno de alfalfa) rociado con dos niveles de enzimas celulasas y xilanasas combinadas, antes de mezclarlas con un concentrado para formar una ración completa. Dean et al. (2005) encontraron que el contenido de PB, en el heno de pasto guinea y ensilaje de pasto bermuda (*Cynodon dactylon*) no se afectó con la aplicación de enzimas fibrolíticas, pero los contenidos de FDN y FDA se redujeron al rociar los forrajes con la enzima Promote. Tous-Rivera et al. (2010) observaron aumento significativo en la proporción de MS y PB al añadir las enzimas Promote o Biocelulase al heno de pasto guinea (*Panicum maximum*), pero los menores valores observados de FDN (70.04 vs. 69.96 y 69.29%), FDA (56.26 vs. 55.44 y 54.40%) y hemicelulosa (14.90 vs. 14.85 y 13.69%) relativo al control no fueron significativos.

Con relación a ULI, Souza y Dos Santos (2002) reportaron la misma tendencia ascendente que la observada en el presente estudio con relación a PB, al aplicar 4 o 6% de urea sobre paja de cebada usada para alimentar ovinos. Wanapat et al. (2000), al comparar paja de arroz rociada con urea contra caña de azúcar para alimentar ganado lechero, obtuvieron un aumento en el contenido de PB (8.5 vs. 7.1%) con la adición de nitrógeno no proteico (NNP), lo que coincide con los resultados presentes referente al efecto positivo de la urea sobre esta fracción.

Consumo Voluntario

Los resultados de CV del HPP ofrecido 24 horas después de ser rociado o no con una enzima fibrolítica o ULI se muestran en el Cuadro 3. La aplicación de ULI tendió a aumentar ($p < 0.06$) el CV de la MS por 90 y 41 g al compararse con la ENZ y CON, respectivamente. El tratamiento del material vegetal con la ENZ resultó en 49 g menos de CV frente al CON. La PB fue la fracción más afectada por la aplicación de ULI al resultar en aumentos ($p < 0.01$) de CV de 25 g sobre ENZ y 20 g sobre CON. La diferencia de 5 g entre estos últimos tratamientos no fue significativa. La tendencia a aumentar el consumo de MS con la aplicación de ULI (Cuadro 3) podría deberse a que cuando la cantidad de nitrógeno requerida para la síntesis microbial es inadecuada, el consumo de MS se afecta proporcionalmente con la disponibilidad de proteína degradable en el rumen (Ruralticnova, 2011). No obstante,

CUADRO 3.—Consumo voluntario diario de heno de pasto pajón con o sin un aditivo enzimático o nitrogenado, por carneros estabulados.

Componente	Tratamiento ¹			
	CON	ENZ	ULI	EEM ²
Consumo Voluntario (g/d) ³				
Alimento ofrecido				
MS	1217	1154	1208	32.12
PB ⁴	78 a ⁵	72 a	98 b	2.23
FDN ⁴	904	855	881	24.90
FDA ⁴	520	515	522	17.11
Alimento rechazado				
MS	231	217	181	17.98
PB	11	10	11	1.05
FDN	171	161	137	13.28
FDA	104	99	91	8.95
Consumo voluntario				
MS	986	937	1027	24.36
PB	67 a	62 a	87 b	1.97
FDN	733	693	744	19.99
FDA	416	415	431	12.80

¹CON = Control, ENZ = Celulasa (Dyadic® Cellulase PLUS), ULI = Urea líquida

²Error estándar de la media (nueve observaciones)

³gramos x día

⁴Datos en base seca

⁵Letras iguales en la misma fila no difieren estadísticamente a $p < 0.05$

la aplicación de ULI solo resultó en pequeños aumentos en el consumo de las fracciones fibrosas (FDN, FDA) sobre CON, y en un aumento de 51 g de FDN sobre ENZ, pero esta diferencia no fue significativa ($p > 0.15$).

Los resultados presentes referentes al tratamiento ENZ coinciden con la experiencia de Lewis et al. (1996) quienes no obtuvieron un efecto positivo en el CV de MS al aplicar una enzima con actividad de celulasa y xilanasas, bien fuera directamente en el rumen o rociada sobre una mezcla de heno y paja de cebada a 0 o 24 horas antes de ser ofrecido. Las investigaciones de Szasz et al. (2002), Yang et al. (2000), Kung et al. (2000) y Sutton et al. (2003) tampoco revelaron un efecto en el consumo de MS y otras fracciones cuando se añadió una enzima fibrolítica a un alimento concentrado o a una ración mixta completa. Por el contrario, Ware et al. (2005) y Krueger et al. (2008) reportaron resultados positivos al utilizar enzimas fibrolíticas. Por ejemplo, Krueger et al. (2008) encontraron aumento en el CV de MS, PB y FDN con la aplicación de enzimas exógenas al heno de pasto bahía (*Paspalum*

notatum) al momento de henilar. Un efecto positivo sobre el CV con la suplementación enzimática podría atribuirse a una mayor tasa de pasaje de sólidos (Feng et al., 1996) o a una más rápida digestión de la fibra en el rumen (Bowman et al., 2002).

En lo concerniente al tratamiento con urea, Rojo et al. (2000), Ruiz et al. (2006) y Zapata et al. (2004) también observaron aumento en el CV de la PB al aplicar urea u otros compuestos de NNP a dietas fibrosas. Igualmente, Shultz et al. (1974) encontraron aumento del consumo de PB, pero no de la MS del heno de pasto pangola tratado con urea. Estos autores sugieren que un posible efecto de la adición de la urea sobre el CV podría deberse a un incremento de la masa microbiana que promueve una rápida degradación de los sustratos fibrosos, aumentando la tasa de pasaje y, por ende, el consumo. Ayala et al. (1994) no encontraron efecto de la urea combinada con melaza sobre el consumo voluntario de las fracciones nutricionales de paja de cártamo.

Al expresar el consumo voluntario diario de MS como porcentaje del PV no se observaron diferencias entre los tratamientos, siendo los valores obtenidos: CON = 3.13, ENZ = 2.94 y ULI = 3.23. Yang et al. (1999) obtuvieron resultados similares a los presentes en vacas lactantes consumiendo forraje tratado con Promote (celulasa y xilanasas combinadas). En cambio, Tous-Rivera et al. (2010) y Krueger et al. (2008) observaron aumento en este índice de consumo al aplicar una enzima fibrolítica al forraje 24 horas antes de ofrecerlo a los animales o antes de empacarlo como henilaje, respectivamente.

Digestibilidad in vivo

En el Cuadro 4 se presentan los valores de digestibilidad del HPP tratado o no con Dyadic® Cellulase PLUS o urea líquida. No hubo diferencias significativas entre tratamientos en lo que atañe a la digestibilidad de la MS, sino una leve superioridad de CON. En cuanto a la

CUADRO 4.—*Digestibilidad aparente porcentual del heno de pasto pajón con o sin un aditivo enzimático o nitrogenado.*

Fracción	Tratamiento ¹			
	CON	ENZ	ULI	EEM ²
Materia seca	67.78	66.12	65.01	1.66
Proteína bruta ³	53.98	52.47	61.11	2.63
FDN ³	73.66	72.00	70.09	1.48
FDA ³	65.08	66.83	60.70	2.06

¹CON = Control, ENZ = Celulasa (Dyadic®Cellulase PLUS), ULI = Urea líquida

²Error estándar de la media (nueve observaciones)

³Datos en base seca

digestibilidad de PB, a pesar de una diferencia numérica sustancial a favor de ULI (8.64 y 7.13 puntos porcentuales) sobre ENZ y CON, no hubo diferencias significativas, sino solo una tendencia ($p < 0.10$) a tales efectos. La diferencia entre CON y ENZ fue solo de 1.51 puntos porcentuales. En relación a la digestibilidad de las fracciones fibrosas (FDN y FDA) ocurrió lo contrario al registrar el tratamiento ULI los menores valores, sobre todo en el caso de FDA; la alta variabilidad evitó que hubiese diferencias significativas. El tratamiento ENZ no dio evidencia de efectividad comparado con el control.

Szasz et al. (2002) tampoco encontraron efectividad de una enzima con actividad de xilanasas y celulasas aplicada a la paja de semilla de *Poa annua* en la digestibilidad de la MS, FDN o FDA. Igualmente, Ruiz et al. (2006), Leatherwood et al. (1960) y Burroughs et al. (1960) observaron que la suplementación con una enzima celulolítica no tuvo efecto en la digestibilidad de varias fracciones químicas de la ración. Krueger et al. (2008) estudiaron la aplicación de amonio o una enzima fibrolítica sobre pasto bermuda con cinco semanas de rebrote y obtuvieron un aumento en la digestibilidad de PB que atribuyeron al mayor aporte de nitrógeno procedente de los aditivos. También encontraron un efecto de los tratamientos sobre la digestibilidad de la MS y las fracciones fibrosas.

En contraste con el estudio presente, Tous-Rivera et al. (2010) obtuvieron un aumento significativo en la digestibilidad de MS, PB, FDN y FDA al usar enzimas fibrolíticas para tratar el pasto guinea de ocho semanas de rebrote. Ellos sugieren que este resultado pudo ser debido al espectro de enzimas presentes que promovió la efectividad microbiana en el rumen. Romero et al. (2011) lograron aumentos significativos de la digestibilidad *in vitro* de MS y FDN del heno de bermuda Tifton 85 con cuatro semanas de rebrote mediante el uso de Dyadic® Cellulase PLUS. Sin embargo, en el presente trabajo *in vivo* la aplicación de la misma enzima a HPP de avanzada madurez no confirmó semejante efecto. Hay que resumir que la mayoría de los datos que describen el efecto de las enzimas fibrolíticas no son concluyentes en escenarios donde las dietas o forrajes utilizados son de baja calidad nutricional o de avanzado estado de madurez (Szasz et al., 2002). En tal sentido, varios hechos son pertinentes: la variabilidad que existe en la expresión de actividad enzimática; las diferentes formas y dosis de aplicación; y los diversos tipos de dieta utilizados, de tal modo que las discrepancias observadas no son sorprendentes. Además, estos hechos ponen al relieve la necesidad de tener precaución al comparar los diferentes estudios (Arriola et al., 2010; Wang et al., 2001). Al respecto, Beauchemin et al. (2003) plantean que las enzimas celulasas comerciales pueden diferir sustancialmente y su proporción y actividad impactarían la eficacia

en la degradación de la pared celular. Es notable que McAllister et al. (1999) informaron un efecto favorable al usar una enzima con una dieta compuesta por cebada y ensilaje de 'ryegrass' (*Lolium* sp.), mientras que ZoBell et al. (2000) no encontraron efecto al utilizar, aparentemente, la misma enzima en una dieta para toros en finalización, con los mismos ingredientes.

Por tanto, el resultado negativo obtenido en el estudio presente con relación al uso de Dyadic® Cellulase PLUS podría deberse a varios factores: primero, a su estabilidad tanto en el HPP (durante y después del procesamiento) como en el rumen; segundo, a la capacidad de los componentes de la enzima para hidrolizar los polisacáridos de la pared celular de las plantas en avanzado estado de madurez; y tercero, a la capacidad de los animales para utilizar los productos de dicha acción fibrolítica. Las gramíneas maduras se caracterizan por la presencia de una cutícula hidrófoba en la superficie y por la asociación de la lignina con los polisacáridos de la pared celular. Por su naturaleza, la lignocelulosa impide que la enzima utilice la fibra en el rumen (Bhat, 2000).

Con relación al uso de urea y otras fuentes nitrogenadas no proteicas, los estudios realizados han sido consistentes en señalar el aporte positivo del NNP en la alimentación y al desempeño productivo animal siempre que se trate de corregir una deficiencia de N ruminal. Sin embargo, su efecto sobre la utilización de otras fracciones aparte de la proteína ha sido variable. Bae y Jung (1988) al probar tres niveles de adición de urea a paja de arroz no obtuvieron efecto de la urea sobre la digestibilidad *in vitro* de los constituyentes de la pared celular, pero sí sobre la de MS. Ayala et al. (1994) observaron un efecto de la adición de 10% urea en una ración para ovinos compuesta de paja de cártamo y granos de sorgo en la digestibilidad de PB, pero no en la MS y FDN; en cambio observaron diferencias en digestibilidad *in vitro*, entre estas fracciones. Chicco et al. (1971) no observaron aumentos significativos de digestibilidad de MS, FDN y N al tratar con biuret o urea a yerba elefante (*Pennisetum purpureum*) cortada a la florecida y usada para alimentar toretes, lo que contrasta con los resultados presentes en relación a N. Yulistiani et al. (2003) trabajaron con la adición de urea a paja de arroz ensilada para alimentar ovinos y, aunque no observaron diferencias significativas, concluyeron que los datos obtenidos indican que probablemente el hidróxido de amonio liberado por la urea causó algún rompimiento de los enlaces entre la lignina y los carbohidratos estructurales del sustrato base. Al tratarse de animales a pastoreo, Yalchi et al. (2010) y Shultz et al. (1974) no encontraron aumento en la digestibilidad de la PB, ni de la MS al suplementar con urea a ovinos que pastaron pasto pangola. A diferencia, Rojo et al. (2000) hallaron aumento en la digestibilidad ruminal de la FDA y FDN al ofrecer urea

y un subproducto microbiano como parte de una dieta suplementaria a toretes en pastoreo, siendo este efecto poco común en la fracción FDA y particularmente cuando se trata de forrajes de mala calidad. Asimismo, Ruiz et al. (2006) reportaron que el uso de urea mejoró la digestibilidad de la pared celular de la cascarilla de avena, lo que atribuyeron probable al crecimiento de microbios ruminales por la mayor presencia de nitrógeno soluble en el rumen.

En conclusión, la composición química del heno de pasto pajón, en avanzado estado de madurez, no fue afectada por la aplicación de la enzima fibrolítica (Dyadic® Cellulase PLUS) que se roció sobre el mismo 24 horas antes de ser ofrecido a los carneros. Tampoco se afectó el CV absoluto o relativo ni la digestibilidad *in vivo*. Más útil lució la aplicación de urea líquida, la cual mejoró la composición química del HPP logrando levantar el contenido de PB en 1.7 unidades porcentuales (8.11 vs. 6.41%), lo que representa un cambio relativo de 21%. También aumentó el CV por cordero de PB (87.5 vs. 67.25 g MS/d), mientras que su digestibilidad mostró tendencia a mejorarse (61.1 vs. 54.0%), resultando en cambios relativos de 23 y 12%, respectivamente, todo lo cual representa una mejoría sustancial del valor nutricional del HPP.

LITERATURA CITADA

- Adesogan, A. T., N. Krueger, M. B. Salawu, D. B. Dean y C. R. Staples, 2004. The influence of treatment with dual purpose bacterial inoculants or soluble carbohydrates on the fermentation and aerobic stability of bermudagrass. *J. Dairy Sci.* 87:3407-3416.
- Almodóvar, L. E., E. Valencia y A. Rodríguez, 2008. Liquid urea rate effects on nutritive value of 8-week regrowth of guinea grass (*Panicum maximum* Jacq.) hay. In: Abst of the 44th Annual Meetings of the Caribbean Food Crops Society Meeting. Miami, FL.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1996. Official Methods of Analysis. 16th ed. AOAC, Arlington, VA.
- Arriola, K. G., S. C. Kim, C. R. Staples y A. T. Adesogan, 2010. Effect of fibrolytic enzyme application to low and high concentrate diets on the performance of lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 94(2):832-841.
- Avellaneda, J. H., J. M. Pinos-Rodríguez, S. S. González, R. Barcena, A. Hernández, M. Cobos, D. Hernández y O. Montañés, 2009. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal fermentation and digestion of Guinea grass hay. *Anim. Feed Sci. Tech.* 149 (1-2):70-77.
- Ayala, J., G. Mendoza, R. Barcena y S. González, 1994. Efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* y melaza-urea sobre la digestibilidad *in vivo* e *in situ* en dietas para ovinos basadas en paja de cártamo. *Vet. Mex.* 25(3):221-226.
- Bae, D. H. y K. K. Jung, 1988. Studies on urea utilization as a source of ammonia for rice straw treatments. *K. J. Anim. Sci.* 30(1):28-33.
- Beauchemin, K. A., D. Colombatto, D. P. Morgavi y W. Z. Yang, 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. *J. Anim. Sci.* 81: E37-E47.

- Bhat, M. K., 2000. Cellulases and related enzymes in biotechnology. Research review paper. *J. Biotechn. Advan.* 18: 355-383.
- Bowman, G. R., K. A. Beachemin y J. A. Shelford, 2002. The proportion of the diet to which fibrolytic enzymes are added affects nutrient digestion by lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 3420
- Brown, W. F. y M. Adjei, 1995. Urea ammoniation effects on the feeding value of guinea-grass (*Panicum maximum*) hay. *J. Anim. Sci.* 73:3085-3093.
- Burroughs, W., W. Woods, S. A. Ewing, J. Greig y B. Theurer, 1960. Enzyme additions to fattening cattle rations. *J. Animal Sci.* 19(2):458-464.
- Chicco, C. F., T. A. Shultz, A. A. Carnevali, L. Oropeza y C. B. Ammerman, 1971. Biuret and urea in supplements for bovines fed green chop elephant grass. *J. Anim. Sci.* 33(1):133-136.
- Combellas, J., E. González-J. y R. Parra-R., 1971. Composición y valor nutritivo de forrajes producidos en el trópico. I. Digestibilidad aparente y verdadera de las fracciones químicas. *Agronomía Tropical* 21(6):483-494.
- Dean, D. B., A. T. Adesogan, N. Kruger y R. C. Littell, 2005. Effect of fibrolytic enzymes on the fermentation characteristics, aerobic stability, and digestibility of bermuda grass silage. *J. Dairy Sci.* 8:994-1003.
- De León, E. y J. A. Choque-López, 2010. El método FAMACHA® para diagnosticar anemias causadas por parasitosis en ovinos y caprinos. Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IDIAF), Santo Domingo, RD.
- Elwakkel, E. A., E. C. Titgemeyer, B. J. Johnson, C. K. Armendariz y J. E. Shirley, 2007. Fibrolytic enzymes to increase the nutritive value of dairy feed stuffs. *J. Dairy Sci.* 90 (11): 5226-5236.
- Feng, P., C. W. Hunt, G. T. Pritchard y W. E. Julien, 1996. Effect of enzyme preparations on *in situ* and *in vitro* degradation and *in vivo* digestive characteristics of mature cool-season grass forage in beef steers. *J. Anim. Sci.* 74:1349-1357.
- Giraldo, L. A., M. L. Tejido, M. J. Ranilla, S. Ramos y M. D. Carro, 2008. Influence of direct fed fibrolytic enzymes on diet digestibility and ruminal activity in sheep fed a grass hay based diet. *J. Anim. Sci.* 86 (7):1617-1623.
- InfoStat, 2008. InfoStat, versión 2008. Manual del Usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Primera Edición, Editorial Brujas. Córdoba, Argentina.
- Krueger, N. A., A. T. Adesogan, C. R. Staples, W. K. Krueger, S. C. Kim, R. C. Littell y L. E. Sollenberger, 2008. Effect of method of applying fibrolytic enzymes or ammonia to Bermuda grass hay on feed intake, digestion, and growth of beef steers. *J. Anim. Sci.* 86:882-889.
- Kung, L. Jr., R. J. Treacher, G. A. Nauman, A. M. Smagala, K. M. Endres y M. Cohen, 2000. The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83:115-122.
- Leatherwood, J. M., R. D. Mochrie y W. E. Thomas, 1960. Some effects of a supplementary cellulase preparation on feed utilization by ruminants. *J. Dairy Sci.* 43(10):1460-1464.
- Lewis, G. E., C. W. Hunt, W. K. Sanchez, R. Treacher, G. T. Pritchard y P. Feng, 1996. Effect of direct fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. *J. Anim. Sci.* 74: 3020-3028.
- McAllister, T. A., S. J. Oosting, J. D. Popp, Z. Mir, L. J. Yanke, A. N. Hristov, R. J. Treacher y K. J. Cheng, 1999. Effect of exogenous enzymes on digestibility of barley silage and growth performance of feedlot cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 79:353-360.
- National Research Council, 2001. Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition, Committee on Animal Nutrition, National Academies Press. 5. Protein and Amino Acids." Nutrient Requirements of Dairy Cattle: 7th Rev. Ed., Washington, DC.

- Newman, Y. C., T. R. Sinclair, A. S. Blount, M. L. Lugo y E. Valencia, 2007. Forage production of tropical grasses under extended day length at subtropical and tropical latitudes. *Environ Exp. Bot.* 61(1):18-24.
- ORIL (Oficina para la Reglamentación de la Industria Lechera), 2008. Informe anual año fiscal 2007-2008. Estado Libre Asociado de Puerto Rico. Departamento de Agricultura. San Juan, P. R.
- Preston, T. R. y M. B. Willis, 1974. Intensive Beef Production. 2nd ed. Pergamon Oxford, U.K.
- Ravelo, G., A. Fernández, M. Bobadilla, N. A. MacLeod, T. R. Preston y A. A. Leng, 1978. Glucose metabolism in cattle on sugar cane based diets: a comparison of rice polishings and cassava root meal. *Trop. Anim. Prod.* 3: 12-N.
- Rodríguez, A. A., J. L. Martínez, R. Macchiavelli y E. O. Riquelme, 2001. Microbial succession, fermentation end products, aerobic stability of guinea grass ensiled with various doses of additive containing bacterial inoculant and fibrolytic enzymes. *J. Agric. Univ. P.R.* 85:151-164.
- Rodríguez, J. L., E. Valencia y A. A. Rodríguez, 2007. Liquid urea by product as additive to improve intake and digestibility of grass hay. Preliminary study. *J. Anim. Sci.* 85, Suppl. 1, T142.
- Rojo, R., G. D. Mendoza, C. M. García, J. R. Bárcena y E. M. Aranda, 2000. Consumo y digestibilidad de pastos tropicales en toros con suplementación nitrogenada y *Saccharomyces cerevisiae*. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 17:358.
- Romero, J. J., A. T. Adesogan, K. G. Arriola y M. A. Zarate, 2011. Improving the potency and reliability of fibrolytic enzymes for enhancing tropical forage utilization by livestock. Animal Sciences Department. University of Florida, Gainesville, FL. 6 pp.
- Ruiz, O., Y. Castillo, J. I. Aguilera, C. Arzola, C. Rodríguez, J. A. Jiménez y H. Rubio, 2006. Cascarrilla de avena tratada con urea y un aditivo enzimático en el consumo, la digestibilidad y la cinética ruminal de novillos. *Rev. Cubana Cienc. Agr.* 40 (4):433-438.
- Ruralticnova, 2011. Nutrición y alimentación del ovino. Requerimientos nutricionales. <http://www.slideshare.net/Ruralticnova/ii-requerimientos-nutricionalesdelosovinos>
- Shultz, E., C. F. Chicco, L. E. Canas y T. A. Shultz, 1974. Urea, biuret y su combinación como suplementos de nitrógeno para ovinos. *Rev. Agron. Trop.* 24 (6):493-504.
- Silvestre, R., N. A. Macleod y T. R. Preston, 1977. Voluntary intake and live weight gain of cattle given chopped sugar cane and solutions of molasses containing different concentrations of urea. *Trop. Anim. Prod.* (2):1-12
- Souza, O. y I. E. Dos Santos, 2002. Digestibilidad *in vivo*, balance de nitrógeno e ingestión voluntaria en ovinos alimentados con paja de cebada tratada con urea. *Arch. Zootec.* 51:361-371.
- Sultan, J. I., I. Rahim, H. Nawaz y M. Yaqoob, 2008. Nutritive value of marginal land grasses of northern grasslands of Pakistan. *Pak. J. Bot.* 40(1):249-258.
- Sutton, J. D., R. H. Phipps, D. E. Beaver, D. J. Humphries, G. F. Hartnell, J. L. Vicini y D. L. Hard, 2003. Effect of method of application of a fibrolytic enzyme product on digestive processes and milk production in Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 86:546.
- Szasz, J. I., T. M. McCalmant, C. W. Hunt, A. V. Grove y L. R. Kennington, 2002. Effect of a fibrolytic enzyme preparation on intake and digestibility of bluegrass seed straw fed to beef cattle. Proc. Western Section. *American Society of Animal Science* 53:10-15.
- Tous-Rivera, K., E. Valencia, A. Rodríguez, P. Rel y A. T. Adesogan, 2010. Enzimas exógenas tipo fibrolíticas sobre el consumo voluntario y digestibilidad de nutrientes de

- heno de pasto guinea (*Panicum maximum* Jacq.). *J. Agric. Univ. P.R.* 94(1-2):131-146.
- Van Soest, P.J., J. Robertson, y B. Lewis, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3595.
- Wanapat, M., S. Chumpawadee y P. Paengkoum, 2000. Utilization of urea-treated rice straw whole sugar cane crop as roughage sources for dairy cattle during the dry season. *J. Anim. Sci.* 13(4): 474-477.
- Wang, Y., T. A. McAllister, L. M. Rode, K.A. Beauchemin, D. P. Morgavi, V. L. Nsereko, A. D. Iwaasa y W. Yang, 2001. Effects of an exogenous enzyme preparation on microbial protein synthesis, enzyme activity and attachment to feeding the rumen simulation technique (Rusitec). *Br. J. Nutr.* 85:325332.
- Ware, R. A., N. Torrentera y R. A. Zinn, 2005. Influence of maceration and fibrolytic enzymes on the feeding value of rice straw. *J. Anim. Vet. Advan.* 4 (3):387-392.
- Yalchi, T., J. Seif y R. Seyed, 2010. Chemical composition and digestibility of urea treated triticale (Straw x Triticosecale). *J. Food Agric. Environ.* 8 (2):618-621.
- Yang, W. Z., K. A. Beauchemin y L. M. Rode, 2000. A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. *J. Dairy Sci.* 83:2512.
- Yang, W. Z., K. A. Beauchemin y L. M. Rode, 1999. Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:391-403.
- Yulistiani, D., J. R. Gallagher y R. J. Van Barneveld, 2003. Intake and digestibility of untreated and urea treated rice straw base diet fed to sheep. *JITV.* 8 (1):8-16.
- Zapata, C., N. E. Obispo y Y. Díaz, 2004. Efecto de la sustitución parcial de la proteína de la dieta por urea sobre el consumo voluntario de materia seca y respuesta productiva de corderos. *Zootec. Trop.* 22(1):29-48.
- ZoBell, D. R., R. D. Weidmeier, K. C. Olson y R. J. Treacher, 2000. The effect of an exogenous enzyme treatment on production and carcass characteristics of growing and finishing steers. *Anim. Feed Sci. Tech.* 87:279-285.

