

Nota de Investigación

DIGESTIBILIDAD IN SITU DEL PASTO PAJÓN (*DICANTHIUM ANNULATUM*) A DIFERENTES GRADOS DE MADUREZ TRATADO CON UNA ENZIMA FIBROLÍTICA^{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):73-77 (2014)

La conservación de gramíneas tropicales en forma de heno ha tomado auge en las últimas décadas y juega un papel importante en la industria lechera de Puerto Rico. A menudo especies de gramíneas tropicales naturalizadas, tales como el pasto pajón (*Dichanthium annulatum*) y guinea (*Panicum maximum* Jacq.) entre otras, que se heniñican en la región sur de Puerto Rico, se encuentran en avanzado estado de madurez. La oferta en el mercado de henos de especies mejoradas, como el de pasto pangola (*Digitaria eriantha*), está limitada por factores climatológicos y de manejo. El heno del pasto pajón (HPP), correspondiente a la descripción anterior, posee en promedio 5% de proteína bruta (PB), 45% de fibra detergente ácida (FDA) y 68% de fibra detergente neutra (FDN), según análisis realizado en Pakistán (Sultan et al., 2008). Es necesario identificar especies forrajeras de mejor valor nutritivo que el pasto pajón para heniñicar o ensilar, o mejorar el manejo de las forrajeras ya existentes para maximizar su aprovechamiento por las vacas lecheras.

Se ha investigado la utilidad de tratamientos químicos para mejorar el valor nutritivo de las gramíneas tropicales conservadas, pero sin enfocar en el efecto de estos tratamientos cuando se aplican a forrajes cortados en diferentes estados de madurez. Por otro lado, se ha probado la práctica de rociar enzimas fibrolíticas al momento de alimentar a los ruminantes para mejorar su consumo voluntario (CV) y digestibilidad (Almaraz et al., 2010; Gallardo et al., 2010; Lewis et al., 1996).

En una investigación local, Tous-Rivera et al. (2010) observaron que la degradabilidad *in vitro* del heno de pasto guinea de ocho semanas de rebrote tratado con las enzimas Promote^{NET} y Biocellulase^{A-20} aumentó en 2.12 y 2.75 puntos porcentuales, respectivamente, comparado con el control. Sin embargo, se requiere un estudio evaluativo adicional del potencial de las enzimas fibrolíticas aplicadas a las gramíneas tropicales de amplio uso en la isla en diferentes estados de madurez. El objetivo principal del presente

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

²Esta investigación se realizó con fondos del USDA-Tropical and Sub-tropical Agricultural Research.

³Ex-estudiante graduado, Departamento de Cultivos y Ciencias Agroambientales, Box 9000, Universidad de Puerto Rico, Mayagüez, PR 00681.

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

⁵Catedrático, Departamento de Ciencia Animal, Box 9000, Universidad de Puerto Rico, Mayagüez, PR 00681.

ensayo es evaluar la degradabilidad ruminal de la fibra de henos de pasto pajón de diferentes grados de madurez tratados con una enzima fibrolítica.

Este experimento se realizó en la vaquería de la Subestación Experimental Agrícola de Lajas de la Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez, en julio de 2012. Se utilizó la técnica *in situ* de suspensión de muestras de forraje dentro de bolsas de dacrón en el rumen, descrita por Ørskov et al. (1980), usando una vaca adulta provista de fistula ruminal (10 cm de diámetro). Esta vaca estuvo en confinamiento y se alimentó *ad libitum* con HPP y tuvo libre acceso a agua limpia durante su uso en el experimento. Los HPP evaluados fueron de diferentes estados de madurez, incluyendo un heno comercial (alegadoamente de ocho semanas de rebrote, según información suplida por la finca proveedora) y henos de 12 y 24 semanas de rebrote cosechados en la misma Subestación. Los henos se rociaron con la enzima Dyadic® Cellulase PLUS⁶ a una dosis de 2.33 g/kg de MS (Romero et al., 2011), 24 horas antes de ser secados y pasados por un molino (Willey) con un tamiz de 2 mm de porosidad. Se usaron bolsas de dacrón (Ankom), tamaño 10 x 20 cm y porosidad 50 µm, de peso tara conocido en que se colocó 5 g de materia vegetal por bolsa. Las bolsas, una vez llenas, se cerraron herméticamente y se ataron con hilo de nilón a tres cadenas de acero inoxidable en grupos de diez para introducir las en el rumen de la vaca. Los grupos de bolsas representaron la madurez del HPP y las bolsas individuales los tiempos de incubación en el rumen. Las bolsas se retiraron escalonadamente después de tres, seis, 12, 24 y 48 horas de incubación. Se tomaron bolsas sin entrar al rumen como representativas del tiempo cero. Tanto las bolsas de tiempo cero como las retiradas del rumen en función del tiempo se lavaron debajo de un flujo de agua de tubería hasta que el efluente quedó completamente claro. Las bolsas lavadas se secaron en un horno de aire forzado a 65°C por 48 horas. Se pesó la bolsa con el residuo, luego se vertió el contenido en una bolsa plástica y se pesó nuevamente la bolsa de dacrón sola. Por diferencia se obtuvo el peso de la materia seca (MS) residual. Se envió la materia vegetal residual al Dairy One Lab., Ithaca, NY, para determinación de las fracciones químicas MS, FDN y FDA (Van Soest et al., 1991).

Se usó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 3 x 6 (tres estados de madurez del HPP x seis tiempos de incubación en el rumen). Los datos de desaparición de MS, FDN y FDA se sometieron a análisis de varianza, comparándose las medias por el método de Tukey (Infostat, 2008) y tomando $p < 0.05$ como valor de significancia.

El Cuadro 1 muestra la digestibilidad *in situ* de la MS, FDN y FDA de los HPP de tres edades de madurez y tratados con la enzima celulolítica, luego de seis duraciones de tiempo de incubación en el rumen. La desaparición de MS del material sin entrar al rumen, pero que se lavó con agua, que representa el tiempo cero, no difirió ($p > 0.05$) entre los tres henos. Durante las tres primeras horas de incubación, la degradación de la MS del heno comercial superó ($p < 0.05$) por 4.47 unidades porcentuales al HPP de 24 semanas de edad, pero su ventaja de 1.62 unidades sobre el HPP de 12 semanas no fue significativa. La diferencia de 2.85 unidades en la degradación de la MS entre los henos de 12 y 24 semanas tampoco alcanzó significancia. A las seis horas de incubación las correspondientes ventajas a favor del HPP comercial en términos de la desaparición de la MS fueron 4.40 y 2.09 puntos porcentuales con la misma relación de significancia de diferencias que en el intervalo anterior. A las 12 horas de incubación el HPP comercial y el heno de 12 semanas de edad superaron ($p < 0.05$) al HPP de 24 semanas de edad, siendo las respectivas diferencias de 3.97 y 5.36 unidades porcentuales. A las 24 y 48 horas de incubación el HPP de 12 semanas de edad fue más degradable que el HPP comercial y

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.

CUADRO 1.—Desaparición (%) de la materia seca (MS), fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) del heno del pasto pajón (HPP) en tres estados de madurez tratado con Dyadic® Cellulase PLUS a diferentes tiempos de incubación en el rumen.

Edad del heno	Tiempo de incubación en horas						EEM ¹
	0	3	6	12	24	48	
MS							
Comercial ^{2,3}	7.93	21.86 a	24.64 a	31.03 a	42.65 b	52.49 b	0.73
12 Semanas	7.38	20.24 ab	22.55 ab	32.42 a	46.84 a	56.99 a	0.73
24 Semanas	6.94	17.39 b	20.24 b	27.06 b	38.80 b	47.38 c	0.73
FDN							
Comercial	6.14	16.21	20.21	26.50 a	35.42 a	43.54 a	0.87
12 Semanas	5.22	16.68	18.74	25.43 ab	38.11 a	43.62 a	0.87
24 Semanas	5.90	13.80	16.27	21.12 b	29.90 b	37.97 b	0.87
FDA							
Comercial	3.71	10.82	12.78	15.75	22.09	24.74 b	0.69
12 Semanas	3.51	10.59	11.65	16.29	24.79	31.10 a	0.69
24 Semanas	3.60	9.37	10.61	14.06	21.50	27.22 b	0.69

¹Error estándar de la media (tres observaciones)

²Ocho semanas

³Medias con letras iguales en la misma columna no difieren significativamente a $p < 0.05$

el de 24 semanas de edad ($p < 0.05$), siendo las respectivas diferencias de 4.19 y 8.04 (24 horas); 4.50 y 9.61 (48 horas) unidades porcentuales. Los márgenes de diferencia entre el HPP comercial y el HPP de 24 semanas de edad fueron de 3.85 y 5.11 unidades porcentuales a las 24 y 48 h, siendo significativa ($p < 0.05$) en el segundo caso.

Con relación a la digestibilidad *in situ* de FDN, a tres y seis horas de incubación no hubo diferencia significativa entre los estados de madurez. Luego de 12 horas en el rumen, la desaparición de FDN del HPP comercial y de 12 semanas de edad fue mayor por 5.38 ($p < 0.05$) y 4.31 ($p > 0.05$) unidades porcentuales al del HPP de 24 semanas. En este intervalo, al igual que a 24 y 48 horas de incubación, las diferencias entre los dos primeros no resultaron significativas. Sin embargo, a 24 y 48 horas de incubación el HPP comercial y de 12 semanas de edad superaron ($p < 0.05$) por 8.21 y 5.52 (24 horas); 5.65 y 5.57 (48 horas) unidades al HPP de 24 semanas. La desaparición de FDA no difirió significativamente entre los tres HPP en los primeros cinco tiempos de incubación. Finalmente, luego de 48 horas en el rumen la desaparición de FDA en el HPP de 12 semanas de edad fue mayor ($p < 0.05$) por márgenes de 6.36 y 3.88 puntos que en el HPP comercial y el de 24 semanas de edad, respectivamente.

Giraldo et al. (2008) utilizaron la enzima Fibrozyme con una dieta de 12.5% de PB, compuesta 70:30 de heno de gramínea:alimento concentrado y encontraron mayor porcentaje de desaparición de MS a nivel ruminal en todos los tiempos de incubación que en el control, llegando, incluso al valor máximo de 74.8%. Igualmente la desaparición de FDN de 59.30% superó a lo obtenido con el HPP del trabajo presente. Los autores atribuyeron la extensa desaparición de MS y de FDN observada a la colonización y posterior digestión de la teórica fracción de fibra lentamente degradable por los microorganismos del rumen. Cabe señalar que dietas con altos niveles de PB, como es el caso en cuestión, tienden a mejorar la degradación de la fibra. En pasto Angleton (*Dichanthium arista-*

rum), a siete semanas de edad sin aplicación de enzimas, Lara et al. (2010) observaron cifras de 53.35, 70.56 y 59.32% de desaparición de MS, FDN y FDA en el rumen, respectivamente. Estos resultados están cercanos a la desaparición de MS observada para el HPP de 12 semanas de edad del estudio presente (3.64 puntos porcentuales menos) y el HPP comercial (0.86 puntos mayor), pero apreciablemente mayor al valor obtenido con el HPP de 24 semanas (5.97 puntos). Las comparaciones análogas con relación a FDN revelan mayor degradabilidad a los tres estados de madurez de HPP, igualmente ocurre en lo relativo a FDA con valores aún más amplios. Aquellos autores concluyeron que a los 28 días de crecimiento el pasto Angleton posee una pared celular muy definida y con alguna lignificación tal que el tratamiento pueda afectar la digestibilidad. Yescas et al. (2004) no encontraron diferencias al aplicar o no Fibrozyme a rastrojos de maíz con relación a la digestibilidad *in situ*. Se atribuyó este resultado al alto grado de cementación entre la celulosa y la lignina típico de un producto de desecho agrícola, coincidiendo, en el efecto de la enzima, con lo obtenido en el presente estudio. Es conocido que a medida que la planta madura se desarrolla una pared secundaria de composición distinta a la primaria donde ocurre una notable deposición de polímeros aromáticos. Estos cambios químicos y anatómicos afectan marcadamente la degradabilidad ruminal del forraje (Ramírez et al., 2002).

En conclusión los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran un efecto de la madurez del HPP al revelar una significativa inferioridad del heno de 24 semanas de edad frente al de 12 semanas en la degradabilidad ruminal de MS, FDN y FDA. A las 48 horas de incubación en el rumen la relativa inferioridad fue de 17, 13 y 12% para MS, FDN y FDA para los henos de 24 semanas. A su vez los datos indican que la aplicación enzimática no sirvió de nivelador en la digestibilidad de los HPP de distintas etapas de madurez, todos tratados con la enzima. Los resultados obtenidos tienden a poner en duda el alegato de que el HPP comercial era de solo ocho semanas de edad, ya que mostró menor digestibilidad *in situ* que el HPP de 12 semanas.

LITERATURA CITADA

- Almaraz, I., S. S. González, J. M. Pinos-Rodríguez y L. A. Miranda, 2010. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on *in sacco* and *in vitro* degradation of diets and on growth performance of lambs. *Italian J. Anim. Sci.* 9: 6-10.
- Gallardo, I., R. Bárcena, J. M. Pinos-Rodríguez, M. Cobos, L. Carreón y M. E. Ortega, 2010. Influence of exogenous fibrolytic enzymes on *in vitro* and *in sacco* degradation of forages for ruminants. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Tecamachalco, México.
- 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.
- Lara, C., L. E. Oviedo y C. A. Betancur, 2010. Efecto de la época de corte sobre la composición química y degradabilidad ruminal del pasto *Dichanthium aristatum* (Angleton). *Zootec. Trop.* 28(2): 275-281.
- 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.
- Ørskov, E. R., F. D. DeB Hovell y F. Mould, 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Trop. Anim. Prod.* 5: 195-213.

- Ramírez, R., R. Gonzalo y F. López, 2002. Factores estructurales de la pared celular que afectan su digestibilidad. *Ciencia UANL* 5(2): 180-188
- 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.
- 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.
- Tous-Rivera, K., E. Valencia, A. Rodríguez, P. Randel 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 non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3595.
- Yescas, Y. R., G. R. Bárcena, M. G. Mendoza, M. S. González, P. M. Cobos y C. M. Ortega, 2004. Digestibilidad *in situ* de dietas con rastrojo de maíz o paja de avena con enzimas fibrolíticas. *Agrociencia* 38(1): 23-31.

